

**Direction des bibliothèques**

**AVIS**

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

**NOTICE**

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

Rôle de l'habenula dans le circuit neuronal de  
l'autostimulation intracérébrale

Par

Marie-Claude Morissette

Programme Sciences biomédicales

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Maîtrès sciences (M. Sc)

en Sciences biomédicales

option Sciences psychiatriques

Novembre, 2007

© Marie-Claude Morissette



Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :  
  
Rôle de l'habenula dans le circuit neuronal de  
l'autostimulation intracérébrale

Présenté par :  
  
Marie-Claude Morissette

À été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

.....Jean Séguin, PhD.....  
président-rapporteur

.....Sandra Boye, PhD.....  
directrice de recherche

.....Pierre-Paul Rompré, PhD.....  
membre du jury

## Résumé

Plusieurs sites dans le cerveau supportent l'autostimulation intracérébrale. Certains de ces sites ont été très bien caractérisés par le passé, mais d'autres ont reçu moins d'attention, par exemple l'habenula. C'est pourquoi, l'objectif de ce projet est d'étudier la relation fonctionnelle qui unit l'habenula aux autres sites reconnus pour supporter l'autostimulation intracérébrale et ce, en utilisant des lésions électrolytiques. Le raisonnement sur lequel est basée cette étude repose sur le postulat que si l'habenula forme une partie du circuit inhérent au renforcement qui lie différents sites le long du faisceau médian prosencéphalique et du mésencéphale postérieur, ou encore qui constitue une étape efférente de ce système, la destruction de l'habenula devrait se refléter par une dégradation du renforcement aux sites situés dans ce circuit. Pour réaliser l'expérience, des électrodes de stimulation monopolaire sont implantées chez des rats mâles Long Evans dans l'hypothalamus latéral, l'aire tegmentaire ventrale, le raphé dorsal ou dans le raphé médian. Par la suite, l'animal est entraîné à s'autoadministrer des salves de pulsions électriques. Le nombre de réponses est mesuré pour une période de 45 secondes durant lesquelles une salve (400 msec) comprend un nombre fixe de pulsions. Par la suite, le nombre de pulsions est réduit de 0.1 log units et une nouvelle séquence débute. Pour chaque rat, trois intensités de courant (exprimée en uA) ont été déterminées : une qui générerait une valeur de M50 égale à 10 pulsions/salve, une seconde qui générerait une valeur de M50 de 20 pulsions/salve et une troisième qui générerait une valeur de M50 de 40 pulsions/salves. Lorsque la réponse pour l'ensemble des courants est stable, une lésion ipsilatérale de l'habenula est effectuée (100 uA, 20-25 sec). Le test se poursuit 24 heures post-lésion pour une durée de 3 à 4 semaines. Dix-neuf rats ont complété l'expérience. Pour cinq d'entre eux, la lésion de l'habenula a produit une réduction de l'efficacité renforçante de la stimulation. Les effets les plus importants de la lésion sont observés aux intensités de courant bas et moyen. L'analyse histologique démontre que pour deux rats, une électrode de stimulation était située dans l'hypothalamus latéral postérieur, deux dans l'aire tegmentaire ventrale et deux dans le raphé dorsal. Les résultats obtenus dans cette étude suggèrent que l'habenula est impliquée dans le fonctionnement du circuit neuronal de l'autostimulation intracérébrale.

**Mots clés :** Autostimulation intracérébrale, habenula, aire tegmentaire ventrale, hypothalamus latéral, raphé médian, raphé dorsal

## Summary

Many sites in the brain support intracranial self-stimulation. Some of these reward-relevant sites have been well characterized, others have not. The habenula is one of those sites that supports self-stimulation but has received comparatively little attention. The purpose of the present experiment was to study the functional relation between the habenula and other reward-relevant sites using electrolytic lesions. The rationale for this experiment was based on the assumption that if the habenula forms part of the reward-relevant pathway that links sites along the medial forebrain bundle and posterior mesencephalon, or constitutes a site efferent to this pathway, then destruction of the habenula should degrade the rewarding effectiveness of the stimulation. Male Long Evans rats were implanted with a monopolar stimulation electrode aimed at the lateral hypothalamus, ventral tegmental area, dorsal or median raphe, and trained to self-administer (nose poke) trains of electrical pulses. The number of responses was measured at each of a descending series of pulse numbers, ranging from those that supported maximal responding to pulse numbers that induced extinction. From these response-number curves, we extrapolated an index of rewarding effectiveness (reward threshold), defined as the pulse number needed for half-maximal responding. For each rat, three current intensities (high, medium, low) were determined that resulted in reward thresholds of approximately 10, 20 and 40 pulses/train. Once responding at each intensity was stable, rats received ipsilateral habenular lesions (direct anodal current, 100  $\mu$ A, 20 sec). Testing resumed 24 hours later and continued for 3-4 weeks. To date, 19 rats have completed the experiment. In five of these, habenular lesions resulted in reductions in the rewarding effectiveness of the stimulation. These effects developed progressively and did not recover. Most lesion effects were observed at low and medium current intensities. Histological analysis revealed that in two of the rats, the stimulation electrode was located in the anterior ventral tegmental area, two in the posterior lateral hypothalamus and one in the area of the dorsal raphe. These results suggest that the habenula is implicated in the neural circuitry for brain stimulation reward.

**Keywords :** Brain stimulation reward, habenula, ventral tegmental area, lateral hypothalamus, dorsal raphe, median raphe

## Table des matières

<b>IDENTIFICATION DU JURY .....</b>	<b>II</b>
<b>RÉSUMÉ .....</b>	<b>III</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>IV</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES .....</b>	<b>V</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS.....</b>	<b>VIII</b>
<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>IX</b>
<b>1. INTRODUCTION .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Autostimulation intracérébrale.....</b>	<b>2</b>
1.1.1 Paradigme de l'autostimulation intracérébrale (ASI) .....	3
1.1.2 Mesure du comportement d'ASI.....	4
1.1.3 Le modèle de compteur .....	9
1.1.4 Neuroanatomie de l'autostimulation .....	10
1.1.5 Rôle de l'habenula dans l'autostimulation .....	12
1.1.6 Marqueurs d'activité métabolique dans l'habenula et L'ASI .....	16
<b>1.2 L'habenula .....</b>	<b>17</b>
1.2.1 Afférences de l'habenula médian.....	17
1.2.2 Efférences de l'habenula médian .....	18
1.2.3 Afférences de l'habenula latéral.....	19
1.2.4 Efférences de l'habenula latéral .....	21
1.2.5 Connexions entre l'habenula médian et l'habenula latéral .....	22
<b>1.3 Études de lésions.....</b>	<b>23</b>
1.3.1 Les lésions électrolytiques .....	24
1.3.2 Lésions mécaniques .....	31
1.3.3 Lésions pharmacologiques .....	33
1.3.4 Lésion temporaire.....	37
<b>1.4 Présentation du projet de recherche .....</b>	<b>39</b>
1.4.1 Présentation des objectifs.....	39

1.4.2 Présentation de l'hypothèse.....	40
<b>2. MÉTHODOLOGIE.....</b>	<b>41</b>
2.1 Sujets.....	42
2.2 Chirurgie .....	42
2.3 Appareillage .....	43
2.4 Entraînement .....	44
2.5 Lésion électrolytique.....	44
2.6 Histologie .....	45
<b>3. ARTICLE PUBLIÉ DANS BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH .</b>	<b>46</b>
<b>4. RÉSULTATS .....</b>	<b>49</b>
<b>5. DISCUSSION.....</b>	<b>52</b>
<b>5.1 Le rôle de l'habenula dans le circuit neuronal de l'ASI.....</b>	<b>53</b>
5.1.1 Analyse histologique de l'emplacement des électrodes.....	53
5.1.2 Utilisation des lésions électrolytiques.....	54
5.1.3 Effet de l'intensité du courant sur le renforcement.....	56
5.1.4 Implication de l'habenula dans le circuit neuronal du renforcement.....	59
5.1.5 Avenues Futures.....	64
<b>6. SOURCES DOCUMENTAIRES.....</b>	<b>65</b>

## Liste des figures

Figure I : Figure explicative pour la méthode du déplacement de la courbe .....	6
Figure II: Utilisation des trois courants pour étudier l'effet de la lésion sur le renforcement .....	58



## Liste des abréviations

ASI : autostimulation intracérébrale

ATV : aire tegmentaire ventral

FMP : faisceau médian prosencéphalique

FR : fasciculus retroflexus

Hb : habenula

HbL : habenula latéral

HbM : habenula médian

HL : hypothalamus latéral

IBO : acide iboténique

NMDA : acide N-méthyl-D-aspartate

RM : raphé médian

RD : raphé dorsal

SM : stria medullaris

## Remerciements

Avec toute ma gratitude, je tiens à remercier mes parents, mes sœurs, Tommy et mes amies pour leurs supports constants tout au long de mes études. J'aimerais aussi remercier mon inséparable collègue, Stéphanie, qui a su égayer mes journées. Merci également à toute l'équipe du Centre de recherche Fernand-Seguin.

J'aimerais souligner la générosité du Dr. Robert Elie pour sa contribution financière à la réalisation de ce projet. Finalement, un merci tout spécial à ma directrice de recherche, Dre. Sandra Boye, qui a cru en moi tout au long de cette aventure. Sa rigueur scientifique, son professionnalisme et son écoute m'auront permis de me perfectionner au cours de ces deux dernières années.

## 1. Introduction

## **1.1 Autostimulation intracérébrale**

En 1954, James Olds & Peter Milner ont effectué une découverte qui menait à l'hypothèse de l'existence d'un circuit neuronal spécialisé dans la transmission d'un signal impliqué dans le renforcement positif (Olds et Milner, 1954). Selon la théorie Skinérienne le renforcement est considéré positif lorsque la présentation du renforcement augmente la probabilité que la réponse soit répétée. Basé sur cette théorie Olds & Milner ont tenté par l'implantation d'électrode de stimulation intracérébrale, d'étudier le système réticulé activateur dans l'apprentissage. La méthode consistait à placer le rat dans une enceinte où ils administraient des stimulations électriques à l'animal lorsqu'il se trouvait dans un endroit précis de la zone de test. Ils constatèrent que la stimulation électrique du septum générait une réponse exploratoire intense, et que les rats retournaient dans la région où la stimulation était générée au préalable. Après plusieurs observations, ces scientifiques proposèrent l'hypothèse que la stimulation était agréable pour l'animal et c'est pourquoi ce dernier retournait de lui-même au site où il avait reçu la stimulation. Afin de tester cette hypothèse, l'animal a été placé dans une enceinte où un levier avait été fixé ; l'appui sur le levier générait une stimulation électrique. Au début de la manipulation, l'expérimentateur administrait à l'animal une stimulation à chaque fois qu'il s'approchait du levier. C'est à ce moment qu'ils constatèrent que l'animal apprit rapidement à appuyer sur le levier pour obtenir la stimulation. L'argument utilisé par ces derniers pour expliquer ce phénomène était que la stimulation électrique augmentait le niveau d'activité de certaines régions du cerveau et était du coup renforçante (Olds et Milner, 1954). Cette grande découverte a suggéré à plusieurs chercheurs de diriger leur recherche vers la mise en évidence de caractéristiques anatomiques, neurochimiques et physiologiques du système neuronal

impliqué dans le phénomène de récompense. La compréhension de l'implication du circuit neuronal dans le renforcement est réellement très importante puisqu'en découvrant et en comprenant comment ce circuit neuronal fonctionne nous serons en mesure de mieux comprendre les situations où ces mécanismes sont dysfonctionnels par exemple dans l'addiction aux drogues d'abus et la dépression. De plus, ceci pourrait avoir une implication dans la compréhension des mécanismes qui régissent l'apprentissage et la mémoire.

### ***1.1.1 Paradigme de l'autostimulation intracérébrale (ASI)***

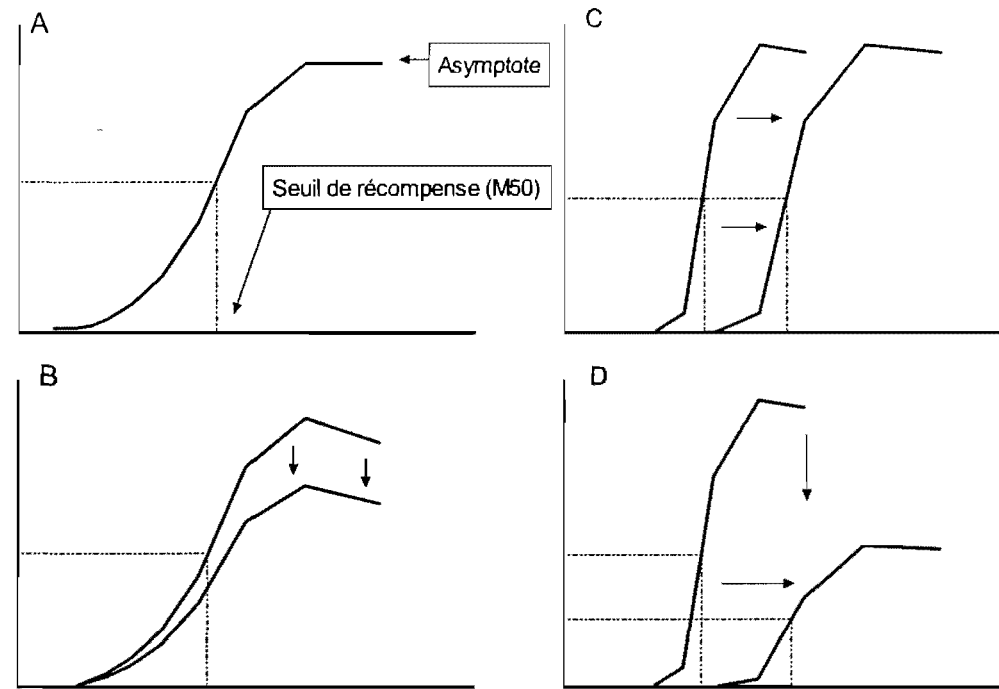
Une électrode de stimulation est implantée chroniquement chez un rat dans un site où la stimulation est connue pour induire un effet de récompense. Chaque fois que l'animal produit la réponse opérante, par exemple, une pression sur un levier, il reçoit une salve de pulsions électriques qui activent les éléments nerveux situés près de la pointe de l'électrode. On observe chez certains rats où les paramètres de stimulation sont optimaux que la valeur renforçante de la stimulation est suffisamment importante pour que l'animal s'autostimule pendant plusieurs heures, même aux dépens de ses besoins physiologiques (Deutsch, Dams et Metzner, 1964; Routtenberg et Lindy, 1965). L'ASI est donc considérée comme étant un modèle de comportement motivé. On croit que le circuit qui est activé par la stimulation est le même que celui activé par les stimuli naturels tels que la nourriture, l'eau, le sexe et les drogues d'abus (Hoebel et Thompson, 1969; Rolls, Burton et Mora, 1980; Wise, 1980). La découverte de l'ASI et les nombreuses études qui s'en sont suivies, furent précieuses pour l'étude des différents mécanismes neuronaux impliqués dans les phénomènes appétitifs. L'avantage d'utiliser l'ASI comme modèle de comportement motivé ne se limite pas à la fiabilité du

phénomène. Ce qui rend cette technique si utile, c'est qu'elle permet de connaître l'endroit exact qui est sollicité dans le cerveau pour générer l'autostimulation : il s'agit des éléments nerveux situés autour de la pointe de l'électrode. Une étude effectuée par Fouriezos et Wise (1984) permet une estimation de l'étendue du courant à partir de la pointe de l'électrode (Fouriezos et Wise, 1984). Ce calcul est basé sur une régression linéaire. Par exemple, un courant d'une intensité de 100  $\mu\text{Amp}$  sera distribué sur  $0.02 \text{ mm}^2$ , un courant de 200  $\mu\text{Amp}$  sera distribué sur  $0.04 \text{ mm}^2$ , et ainsi de suite. De plus, cette technique devient un outil fiable lorsque nous devons effectuer des études de neuroanatomie ou bien lorsque le comportement ciblé doit être reproductible durant plusieurs mois, car le comportement d'autostimulation demeure présent, stable et constant sur de longues périodes.

### *1.1.2 Mesure du comportement d'ASI*

Les premiers travaux effectués en ASI utilisaient le taux de réponse par unité de temps comme indice de la valeur renforçante de la stimulation électrique. Le raisonnement derrière cette approche était que le taux de réponse reflète l'efficacité de la valeur renforçante induite par la stimulation. La validité de la relation entre la force de la stimulation et le taux de réponse comme étant une mesure de l'efficacité du renforcement fut remise en question par Hodos et Valenstein (Hodos et Valenstein, 1962). Les résultats de leur étude démontrent que le taux de réponse n'était pas un bon indice de l'efficacité du renforcement : lorsque l'animal avait le choix, il préférait la stimulation qui générait la fréquence la plus élevée plutôt que celle qui générait la fréquence la plus basse, indépendamment de leurs taux de réponse. Ce phénomène est explicable par le fait que l'électricité est très efficace pour exciter les tissus neuronaux.

De ce fait, la stimulation excitera d'autres systèmes neuronaux qui aura pour effet de produire des effets secondaires qui interfèrent avec le comportement ASI. Par exemple, il est évident que l'animal n'est pas en mesure d'appuyer sur un levier et de se lécher simultanément. Le résultat de ces effets secondaires se traduit donc par une diminution du taux de réponse de l'animal. Par contre, ceci ne signifie pas que la valeur renforçante de la stimulation a diminué, mais elle reflète uniquement que l'animal n'est plus en mesure de répondre à la stimulation de la même manière. Par conséquent, si nous utilisons les taux de réponse pour mesurer le renforcement, notre mesure ne sera pas le reflet exact du renforcement induit par la stimulation puisque la manipulation expérimentale peut interférer avec la capacité de l'animal à effectuer la réponse. Dans ce cas, l'animal choisira la valeur de stimulation la plus élevée même si celle-ci génère des taux de réponse très bas. Pour remédier au problème observé avec la mesure des taux de réponse, une nouvelle méthode fut proposée: la méthode du déplacement de la courbe. La relation entre la force de la stimulation et la réponse opérante prend généralement la forme demi-sigmoïde une fois tracée sur une échelle semi-log. Cette dernière est fort similaire à la courbe dose-réponse obtenue dans les études pharmacologiques. La courbe est caractérisée par un plateau inférieur qui signifie que le faible nombre de pulsions par salve n'est pas suffisamment renforçant pour que l'animal réponde. Par la suite, la stimulation génère un comportement qui est caractérisé par une portion ascendante de courte durée. Suite à cette ascension, un plateau supérieur qui constitue l'asymptote est obtenu (voir la figure 1A)



**Figure I : Figure explicative pour la méthode du déplacement de la courbe**

A) Méthode de détermination du M50 B) Changement sélectif de la capacité de l'animal à répondre C) Changement sélectif du renforcement D) Combinaison d'une diminution du renforcement et de la capacité de répondre



La force de stimulation peut être contrôlée en changeant la valeur de différents paramètres de stimulation. Par exemple, la durée de la salve de stimulation, la durée de la pulsion, la fréquence ou l'intensité du courant (Gallistel, Shizgal et Yeomans, 1981). La courbe taux de réponse-pulsions est obtenue en mesurant le taux de réponse dans des séquences successives de pulsions ou d'intensités du courant. Cette gamme complète de pulsion caractérise l'ensemble du comportement de l'animal, soit de la réponse minimale à la réponse maximale.

L'utilisation du paradigme du déplacement de la courbe en ASI prend tout son sens lorsque l'on doit étudier la forme et le déplacement de la courbe suite à une manipulation expérimentale. Cette méthode nous permet de dissocier les changements de renforcement et de performance suite à la stimulation du site d'intérêt. En utilisant le paradigme de déplacement de la courbe Edmonds et Gallistel (1974) ont démontré que les facteurs qui influencent le renforcement ou l'habileté de l'animal à effectuer une tâche opérante produisent un déplacement de la courbe soit latéral ou vertical, respectivement (Edmonds et Gallistel, 1974). Des études de validation ont depuis permis des généralisations de ces résultats (Miliaressis et Rompré, 1987; Miliaressis, Rompré, Laviolette, Philippe et Coulombe, 1986). Par exemple, des études ont démontré par l'utilisation de poids sur le levier, d'injection de neuroleptiques, d'injection de relaxant musculaire (Miliaressis, Malette et Coulombe, 1986) ou bien en générant des stimulations simultanées dans un site qui supporte le renforcement et un site qui produit un effet moteur (Miliaressis et Rompré, 1987), que ces manipulations produisent un déplacement vertical de la courbe qui est corrélée avec une diminution de la capacité de l'animal à répondre (voir figure IB).

D'autre part, certaines manipulations réduisent le nombre de neurones stimulés à la pointe de l'électrode. Par exemple en réduisant le courant, on doit augmenter le nombre de pulsions par salve pour induire la réponse opérante, ce qui se traduit par un déplacement de la courbe vers la droite (voir figure IC). Ceci s'explique par la présence d'un système monotonique, c'est-à-dire qu'une entrée (stimulation) génère une sortie (comportement), ce qui signifie que l'augmentation du nombre de pulsions est proportionnelle aux nombres de neurones qui sont perdus (Gallistel et al., 1981).

Par opposition, un déplacement vers la gauche de la courbe reflète une augmentation de la valeur renforçante de chaque pulsion puisqu'un nombre de pulsions/salve plus basses est nécessaire pour obtenir le même comportement qu'avant la manipulation expérimentale. Finalement, une combinaison d'effets sur la valeur renforçante de la stimulation (latéral) et sur la performance (vertical) peut être obtenue suite à une manipulation expérimentale. Dans ce cas, des déplacements de la courbe le long de l'axe des abscisses et des ordonnées seront observés (voir la figure ID).

Afin de pouvoir quantifier les déplacements latéraux, Edmonds et Gallistel (1974) ont proposé que la fréquence des pulsions requise pour induire un taux de réponse égal à 50% du taux maximal (niveau asymptotique)(M50) puisse être employée comme index de la valeur renforçante de la stimulation (Edmonds et Gallistel, 1974). Cette valeur étant nommée seuil de récompense. Comparativement à la mesure des taux de réponse, le M50 est plus indépendant de la performance de l'animal.

Finalement, afin de faciliter la compréhension de la relation qui lie l'intensité du courant à la fréquence de stimulation, Gallistel et ses collègues (1981) ont proposé une manière d'expliquer l'ensemble des données recueillies à cette époque; il s'agit du modèle de compteur.

### *1.1.3 Le modèle de compteur*

Le modèle de compteur propose que l'effet renforçant de la stimulation soit déterminé par le nombre de potentiels d'action déclenchés durant une période donnée, indépendamment de leur distribution spatiale ou temporelle. Le nombre de potentiels d'action est directement relié au nombre de pulsions (de courtes durées) présentes dans la salve tandis que le nombre de cellules stimulées est fonction de l'intensité du courant. Comme la relation qui unit l'intensité du courant à l'inverse du nombre de pulsions est linéaire dans un éventail de combinaisons pulsions-courant, la magnitude du déplacement de la courbe sera dépendante de ces deux paramètres. Par exemple, si l'on augmente l'intensité du courant, le champ de stimulation sera élargi et le nombre de cellules qui sont en mesure de générer un potentiel d'action sera augmenté. Du coup, si l'on veut maintenir le comportement et le niveau de renforcement à un niveau constant, on devra diminuer le nombre de pulsions dans la salve (pulsions/seconde). Cette relation peut être décrite par l'équation qui suit : le nombre total de potentiels d'action = # de neurones excités \* # de pulsions, où le # de neurones excités est déterminé par la taille du champ de stimulation. Ceci est corrélé à l'intensité du courant. Cette équation sera valide à condition que :

- 1- La synapse agit comme un compteur de pulsion

- 2- La diffusion du courant soit isotrope dans la région du cerveau stimulée
- 3- Dans cette région : la distribution est homogène dans l'espace tridimensionnel (Gallistel et al., 1981)

En résumé, les résultats obtenus avec les courbes taux de réponse-pulsions deviennent une méthode d'interprétation des résultats beaucoup plus fiable que la mesure du taux de réponse, car elle nous permet de mesurer le changement dans la valeur du renforcement. La mesure du déplacement de la courbe nous fournit un index des changements de la récompense et de la performance chez l'animal. Cette méthode devient donc un outil de référence pour déterminer l'effet d'une manipulation expérimentale en ASI.

#### ***1.1.4 Neuroanatomie de l'autostimulation***

De nombreuses régions dispersées entre le bulbe olfactif (Carter et Phillips, 1975) et la médulla (Phillips et Mogenson, 1968) soutiennent le comportement d'ASI. Tout d'abord, on retrouve au niveau du télencéphale, la portion la plus antérieure du cerveau, de nombreux sites impliqués dans le renforcement. Parmi ces sites, on retrouve le bulbe olfactif (Carter et Phillips, 1975; Olds, 1962; Routtenberg et Malsbury, 1969; Routtenberg et Olds, 1966), le cortex préfrontal (Prado-Alcala et Wise, 1984; Routtenberg et Olds, 1966; Routtenberg et Sloan, 1972), le septum (Olds et Milner, 1954; Routtenberg et Malsbury, 1969), le cingulum (Olds, 1962; Routtenberg, 1971), le corps calleux (Routtenberg, 1971), l'amygdale (Prado-Alcala et Wise, 1984) et le noyau accumbens (Prado-Alcala et Wise, 1984). Dans le diencephale, une grande proportion des sites positifs pour l'ASI se retrouvent le long de l'axe antéro-postérieur du faisceau

médian proencéphalique (FMP). Le FMP est un regroupement de fibres nerveuses qui passent par le noyau hypothalamique latéral, la région préoptique, l'aire tegmentaire ventrale (ATV) et la substance *inominata*. On retrouve au centre de l'encéphale une région qui contient de nombreux sites positifs, soit sous la zona incerta entre le fornix et la pointe médiane de la capsule interne (Gratton et Wise, 1983). Des études démontrent qu'une grande densité de sites positifs se trouve au niveau du mésencéphale, plus précisément dans la substance noire (Huang et Routtenberg, 1971; Prado-Alcala, Kent et Reid, 1975), dans l'hypothalamus latéral (HL)(Huang et Routtenberg, 1971; Olds et Olds, 1963) et au niveau de l'ATV (Routtenberg et Malsbury, 1969). Blander et Wise (1989) ont également démontré la présence de nombreux sites positifs à l'ASI au niveau de la stria medullaris (SM), un faisceau de fibres qui relie le complexe habenulaire à certains noyaux prosencéphaliques antérieurs (Blander et Wise, 1989). En 1981, Sutherland et Nakajima ont fait la démonstration que le complexe habenulaire et sa voie de sortie, le fasciculus retroflexus (FR), supportaient l'ASI. La présence de l'ASI dans la voie épithalamique fut confirmée par Miliaressis (Vachon et Miliaressis, 1992). De plus, ces derniers ont démontré que de nombreux sites se trouvant dans la région dorsale diencephalique supportaient l'ASI (Vachon et Miliaressis, 1992). Une étude complémentaire à celle-ci démontre la présence de sites soutenant l'ASI localisés dans certains noyaux thalamiques : l'étude révèle que les régions médianes semblent plus riches en sites positifs à l'ASI que les régions latérales (Clavier et Gerfen, 1982). Par la suite, on retrouve au niveau du mésencéphale postérieur une bande de sites positifs à l'ASI située entre le plancher du quatrième ventricule et la limite dorsoventrale des noyaux pontins. Cette bande de sites positifs, s'étend principalement au niveau de la ligne médiane. Parmi ces sites, on retrouve la matière grise, le raphé dorsal (RD) et le

raphé médian (RM) (Rompré et Boye, 1989; Rompré et Miliareisis, 1985; Routtenberg et Malsbury, 1969). Finalement, on retrouve au niveau du rhombencéphale, la portion la plus caudale de l'encéphale, d'autres sites qui supportent l'ASI: une portion du cervelet au niveau de la lamina I et II (Corbett, Fox et Milner, 1982), le locus coeruleus (Crow, Spear et Arbuthnott, 1972), le noyau solitaire (Carter et Phillips, 1975) et finalement au niveau du nerf trijumeau (Corbett et Wise, 1979).

En résumé, en effectuant une revue des études portant sur la neuroanatomie du système de récompense, on met en évidence la répartition diffuse des sites positifs dans l'encéphale. Malgré cette grande dispersion, les sites qui supportent l'ASI qui ont reçu le plus d'attention scientifique se trouvent le long de l'axe qui s'étend du noyau accumbens au mésencéphale postérieur. Par contre, de nombreux sites situés à l'extérieur de ce corridor de renforcement supportent aussi l'ASI, mais relativement peu de choses sont connues à propos de ces sites. L'un de ces sites est l'habenula (Hb). Plusieurs études suggèrent une relation fonctionnelle entre l'Hb et une portion du circuit neuronal impliqué dans le renforcement. Cette structure est entourée antérieurement, dorsalement et postérieurement par le troisième ventricule et se situe au centre du cerveau à proximité de l'hippocampe.

#### ***1.1.5 Rôle de l'habenula dans l'autostimulation***

L'Hb, est une région du cerveau qui est impliquée dans diverses formes de comportement qui incluent: la nociception (Benabid et Jeaugey, 1989; Cohen et Melzack, 1985; Smith, Stewart et Pfaus, 1997), l'ingestion (Booth, 1967), les comportements maternels (Corodimas, Rosenblatt, Canfield et Morrell, 1993; Matthews-Felton, Corodimas, Rosenblatt et Morrell, 1995), les comportements sexuels (Modianos,

Hitt et Flexman, 1974; Tennent, Smith et Davidson, 1982), l'anxiété (Murphy, DiCamillo, Haun et Murray, 1996), l'apprentissage et la mémoire (Gonzalez-Lima et Scheich, 1986; Tronel et Sara, 2002), le stress (Amat, Sparks, Matus-Amat, Griggs, Watkins et Maier, 2001), la régulation du sommeil (Haun, Eckenrode et Murray, 1992; Valjakka, Vartiainen, Tuomisto, Tuomisto, Olkkonen et Airaksinen, 1998) et l'autostimulation intracérébrale (Sutherland et Nakajima, 1981; Vachon et Miliareisis, 1992). Dans ce mémoire, notre attention sera tournée sur le rôle de l'Hb dans l'ASI. Quelques études ont été effectuées pour tenter de comprendre le circuit neuronal qui relie l'Hb au reste du système de renforcement positif (Sutherland et Nakajima, 1981). La méthodologie utilisée était l'implantation d'électrodes bipolaires dans l'Hb et dans le FR (Sutherland et Nakajima, 1981). Suite à ces manipulations, il fut constaté que l'animal était en mesure de s'autostimuler lorsque l'électrode de stimulation se trouvait dans la SM, l'Hb ou dans le FR.

Pour mieux comprendre l'importance de la génération du renforcement par l'ASI dans l'Hb, Sutherland et Nakajima (1981) ont effectué une seconde expérimentation qui avait pour objectif de comprendre la relation fonctionnelle qui existe entre ce site et le reste du circuit neuronal impliqué dans le renforcement positif. Une grande proportion des fibres descendantes dans le FR proviennent de l'Hb médiane et se terminent dans le noyau interpedonculaire. Le FR contient aussi des fibres qui proviennent de l'Hb latérale (HbL). Ces dernières se divisent en trois composantes une fois qu'elles atteignent la partie ventrale du cerveau. L'une d'elles rejoint les fibres ascendantes du FMP et termine sa route dans l'HL et l'aire préoptique latérale (Herkenham et Nauta, 1977). La seconde aire de projection est dirigée vers la substance noire (Herkenham et Nauta,

1977; Herkenham et Nauta, 1979). Finalement, la troisième projection relie l'HbL au cerveau postérieur, plus précisément au niveau du noyau du RM et en plus faible proportion au niveau du RD (Geisler et Zahm, 2006; Herkenham et Nauta, 1977; Herkenham et Nauta, 1979). Les projections provenant de l'HbL, représentent une grande proportion des afférences qui émergent aux noyaux du RM et du RD (Aghajanian et Wang, 1977). De plus, une connexion très importante relie l'Hb au FMP. Afin de mieux comprendre le lien qui unit ces sites, ils ont procédé à la lésion électrolytique du RM et de l'HL. Les résultats obtenus suite à ces expérimentations démontrent que la lésion de l'HL produit une augmentation de l'ASI dans l'Hb. L'effet inverse est observé lorsque la lésion du RM est effectuée, soit une diminution significative des taux de réponse. La dernière expérimentation qui consistait à léser l'Hb et à stimuler le RM a produit une légère augmentation des taux de réponse suite à la lésion.

Bien que ces résultats suggèrent un rôle d'antagonisme mutuel entre l'Hb et le FMP ainsi qu'entre l'Hb et le RM, la méthodologie utilisée, c'est-à-dire la mesure des taux de réponse, ne permet pas d'évaluer avec justesse l'effet de la lésion sur le pouvoir renforçant de la stimulation. Comme décrite préalablement, cette technique comporte de nombreux biais qui ne permettent pas de quantifier le renforcement. Il n'en demeure pas moins que cette étude est la première évidence directe qu'un effet renforçant peut être produit par une stimulation électrique des noyaux de l'Hb (Sutherland et Nakajima, 1981).



Pour faire suite à cette étude, l'équipe de Miliaressis (Vachon et Miliaressis, 1992) a caractérisé l'ASI dans l'ensemble du diencephale dorsal, incluant l'Hb. Par contre, ces derniers ont utilisé la méthode du déplacement de la courbe combinée à une électrode mobile pour mesurer l'efficacité du renforcement. En utilisant une électrode mobile, ces derniers s'assuraient d'une meilleure résolution anatomique. Cette méthode permet de tester chez le même animal plusieurs sites consécutifs (axe dorso-ventral); et permet d'éliminer l'erreur causée par l'estimation des coordonnées rostro-caudale et latérale. Les régions qui supportent l'autostimulation décrite dans cette étude peuvent être divisées en quatre groupes anatomiquement distincts : un groupe épithalamique qui comprend la SM, l'Hb et le FR. Un groupe thalamique dorsomédial et central qui comprend une variété de noyaux thalamique. Un groupe de la portion ventrale diencephalique qui inclut hypothalamus dorsal et les régions mamillaires et finalement, un groupe de noyaux tegmentaux qui comprennent les noyaux pontins et l'ATV. Notre attention sera portée plus particulièrement au niveau des régions qui se trouvent dans le groupe épithalamique puisqu'il comprend les sites à l'étude dans ce mémoire. Les résultats de l'étude de Miliaressis (Vachon et Miliaressis, 1992) démontrent que la stimulation des sites dans l'ensemble de la voie épithalamique (SM, Hb, FR) supporte l'ASI (Vachon et Miliaressis, 1992). Il s'agit donc d'une validation des résultats obtenus dans les études précédentes qui démontraient la présence d'ASI dans la SM et l'Hb (Sutherland et Nakajima, 1981). Les substrats épithalamiques de l'ASI semblent avoir des liens anatomiques avec une variété de régions limbiques qui sont connues pour supporter ce comportement. Par contre, la relation fonctionnelle entre ces voies de renforcement dorsales et ventrales n'a toujours pas été démontrée avec le paradigme du déplacement de la courbe. C'est pourquoi le travail effectué tout au long de cette

maîtrise avait pour objectif d'utiliser des lésions électrolytiques afin de mieux comprendre la relation entre l'Hb et quatre autres régions impliquées dans le renforcement induit par l'ASI soit le RD, le RM, l'ATV et l'HL. Le choix de ces régions du cerveau fut basé sur le fait que l'HL et l'ATV sont les deux sites les plus étudiés en ASI. La décision d'étudier le RM fut basée sur les résultats obtenus par Sutherland et Nakajima (1981) qui suggèrent une relation fonctionnelle entre l'Hb et ce site. Finalement, l'étude du RD fut basée sur plusieurs études qui suggéraient que ce site constitue une importante partie du circuit en ASI (Rompré et Boye, 1989; Rompré et Miliareisis, 1985). De plus, des études complémentaires utilisant des marqueurs métaboliques viennent renforcer l'idée que l'Hb joue un rôle important dans le circuit neuronal du renforcement (Arvanitogiannis, Flores, Pfaus et Shizgal, 1996a; Arvanitogiannis, Flores et Shizgal, 1997; Arvanitogiannis, Tzschentke, Riscaldino, Wise et Shizgal, 2000; Bielajew, 1991; Gallistel, Gomita, Yadin et Campbell, 1985; Gomita et Gallistel, 1982; Hunt et McGregor, 1998; Hunt et McGregor, 2002).

#### ***1.1.6 Marqueurs d'activité métabolique dans l'habenula et L'ASI***

Premièrement, les éléments nerveux directement stimulés qui supportent l'ASI dans l'Hb ont des périodes réfractaires qui sont comparables à celles dans le FMP (Vachon et Miliareisis, 1992). En second lieu, la stimulation renforçante de plusieurs emplacements du FMP augmente l'immunoréactivité de FOS (Arvanitogiannis et al., 1997; Arvanitogiannis et al., 2000; Hunt et McGregor, 1998; Hunt et McGregor, 2002); et le métabolisme oxydatif (Bielajew, 1991) dans l'HbL. Troisièmement, l'activité métabolique de l'Hb, mesurée par l'autoradiographie au  $^{14}\text{C}$ -2-deoxyglucose, est diminuée suite à la stimulation de sites situés dans le FMP (Gomita et Gallistel, 1982).

L'ensemble de ces résultats suggère fortement que l'Hb puisse constituer une structure importante impliquée dans les circuits neuronaux qui régissent les mécanismes de récompenses.

## **1.2 L'habenula**

L'Hb est une structure du diencephale composée de deux divisions principales : HbL et HbM. Chacune de ces parties possède des connexions afférentes, efférentes et une neurochimie qu'il lui est propre. Deux faisceaux de fibres majeurs sont associés à l'Hb : la SM et le FR. La SM apporte les afférences au complexe habenulaire à partir des régions limbiques comprises dans la partie antérieure du cerveau et des structures du ganglion de la base (Nauta, 1958). Le FR, quant à lui est la principale connexion entre l'Hb, les noyaux postérieurs et quelques noyaux antérieurs (Akagi et Powell, 1968). Ce faisceau contient des fibres ascendantes et descendantes qui proviennent des structures du cerveau moyen et du noyau interpédonculaire (Herkenham et Nauta, 1977).

### ***1.2.1 Afférences de l'habenula médian***

La majorité des afférences qui atteint la partie médiane de l'Hb, provient des noyaux compris dans le cerveau antérieur et voyage par la SM ou bien par le pédoncule thalamique inférieur (Millhouse, 1969). Ces faisceaux sont formés d'un groupe commun de fibres qui provient de la partie dorsale du FMP et diverge à la limite ventrale du thalamus (Millhouse, 1969). Il fut démontré par le passé que les principales afférences qui font synapse dans l'HbM proviennent de deux noyaux : soit le noyau *fimbrialis* et le noyau *triangularis septi* compris dans le septum postérieur (Herkenham et Nauta, 1977; Parent, Gravel et Boucher, 1981). Différents groupes de recherche ont clairement

démontré que le noyau *fimbrialis* projette uniquement dans la portion rostrale de l'HbM, tandis que le noyau *triangularis septi*, projette principalement dans la partie caudale de l'HbM (Herkenham et Nauta, 1977; Parent et al., 1981). L'HbM reçoit également des afférences provenant du noyau interfasciculaire compris dans l'ATV (Phillipson et Pycock, 1982), du Locus Coeruleus et des ganglions supérieurs cervicaux (Gottesfeld, 1983). De plus, des projections provenant du noyau arqué compris dans l'hypothalamus furent démontrées par des études de traçage antérograde au *phaseolus vulgaris leucoagglutin* (Sim et Joseph, 1991). Le noyau accumbens et la bande diagonale de Broca projettent également au niveau de l'HbM par la SM mais avec une contribution beaucoup moins importante que les noyaux thalamiques (Herkenham et Nauta, 1977; Powell et Leman, 1976). Des connexions au niveau de l'HbM provenant des régions postérieures ont aussi été démontrées. On observe des projections très évidentes à l'aide d'analyses autoradiographiques (dans ces études on injectent un traceur radioactif dans le noyau d'intérêt et on observe les projections effectuées par ce noyau après quelques jours) provenant du RM, des projections condensées provenant de la matière grise ventrale et d'autres projections provenant du noyau tegmental dorsolatéral vers l'HbM (Bobillier, Pettijean, Salvart, Ligier et Seguin, 1975; Moore, Halaris et Jones, 1978). Les afférences en provenance des régions postérieures contiennent une infime proportion des connexions totales qui sont produites dans l'HbM.

### ***1.2.2 Efférences de l'habenula médian***

Des études effectuées par autoradiographie démontrent que les efférences qui émergent de l'HbM se trouvent sous forme d'une projection compacte à l'intérieur du FR et se terminent au niveau du noyau interpedonculaire (Herkenham et Nauta, 1979). Les fibres

qui quittent l'HbM sont contenues dans la partie centrale du FR et leur point d'arrêt au niveau du noyau interpedonculaire représente une rotation de 90 degrés de la topographie de l'HbM, c'est-à-dire que la partie dorsale de l'HbM projette dans la partie latérale du noyau interpedonculaire et la partie médiane de l'HbM dans la partie ventrale (Cajal & Ramon, 1911). En se basant sur la coloration des fibres terminales suite à la lésion de l'Hb, un lien entre l'HbM et la glande pinéale fut démontré (Ronnekleiv et Moller, 1979). Finalement, quelques fibres projettent dans la partie adjacente de l'ATV (Akagi et Powell, 1968; Cuello, Emson, Paxinos et Jessell, 1978), ou bien dans la partie postérieure du RM comme le démontrent les études d'autoradiographies (Herkenham et Nauta, 1977; Herkenham et Nauta, 1979). Par contre, ces connexions sont de loin inférieures à celles générées au niveau du noyau interpedonculaire.

### ***1.2.3 Afférences de l'habenula latéral***

Chez le rat, l'HbL reçoit des afférences par trois faisceaux de fibres : la SM, le FR et la commissure habenulaire. Tout comme l'HbM, la majeure partie des afférences qui sont dirigées vers l'HbL voyage par la SM. Une étude utilisant le traceur rétrograde *choleratoxin subunit B*, et le traceur antérograde *Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin* démontre que la majeure partie des projections provenant du cerveau antérieur est générée par le pallidum ventral (Groenewegen, Berendse et Haber, 1993). Ces résultats furent confirmés par la même méthode (Kha, Finkelstein, Pow, Lawrence et Horne, 2000). D'autres sites furent reconnus pour générer des connexions ascendantes vers l'HbL soit les noyaux thalamiques (Risold, Canteras et Swanson, 1994), le septum ventrolatéral, le noyau accumbens, l'HL, le cortex frontal médian, l'aire préoptique latérale et la bande diagonale de Broca (Herkenham et Nauta, 1977; Swanson, 1976).

La reconnaissance de ces connexions fut révélée par des études autoradiographiques (Swanson, 1976), ou par l'injection d'un traceur de type *horseradish peroxidase* (Herkenham et Nauta, 1977). L'utilisation de ces deux techniques a aussi permis de démontrer la présence de connexions entre le noyau *basalis* et l'HbL (Herkenham et Nauta, 1977; Troiano et Siegel, 1978). De plus, plusieurs études ont démontré des projections provenant de l'ATV qui sont dirigées vers l'HbL (Beckstead, Domesick et Nauta, 1979; Phillipson et Pycock, 1982; Reisine, Soubrie, Ferron, Blas, Romo et Glowinski, 1984; Skagerberg, Lindvall et Bjorklund, 1984)

Tout comme le cerveau antérieur, le cerveau postérieur génère des afférences à l'HbL par le FR et la SM. La plus grande densité de ces connexions provient du RM (Vertes, Fortin et Crane, 1999). En plus faible proportion, d'autres sites comme le noyau du RD (Beckstead et al., 1979), l'ATV rostrale au noyau interpédonculaire (Beckstead et al., 1979; Herkenham et Nauta, 1977; Kizer, Palkovits et Brownstein, 1976), la matière grise centrale et le noyau tegmental dorsolateral génèrent des connexions ascendantes vers l'HbL (Herkenham et Nauta, 1977).

En résumé, on constate que l'HbL reçoit des afférences de plusieurs sites largement distribués entre le cerveau antérieur et postérieur. Le site qui semble générer le plus d'afférences à l'HbL en provenance du cerveau antérieur est le pallidum ventral. On constate par l'utilisation du traceur antérograde *phaseolus vulgaris leucoaglutin* que les principales afférences provenant du cerveau postérieur sont produites par le RM (Vertes et al., 1999).

### ***1.2.4 Efférences de l'habenula latéral***

Les efférences qui proviennent de l'HbL sont beaucoup plus nombreuses que celles issues de l'HbM. La majorité des projections observées sont dirigées par le FR vers les régions caudales de l'encéphale. Des études effectuées dans les années 70 à l'aide de la technique d'autoradiographie démontrent que l'HbL projette de manière prédominante dans le RM et RD et en plus faible proportion au niveau de la matière grise centrale (Akagi et Powell, 1968; Herkenham et Nauta, 1977; Herkenham et Nauta, 1979). Des afférences à la substance noire compacte en provenance de l'HbL ont été démontrées par des études de traçage rétrograde et antérograde (Bunney et Aghajanian, 1976; Herkenham et Nauta, 1977; Herkenham et Nauta, 1979). De plus, ces études révèlent des efférences descendantes additionnelles en provenance de l'HbL qui sont dirigées vers le colliculus supérieur, la matière grise centrale, la portion ventrale et dorsale du noyau tegmental de Gudden et au niveau du locus coeruleus (Akagi et Powell, 1968; Herkenham et Nauta, 1977; Herkenham et Nauta, 1979). En plus des projections vers les régions caudales, on retrouve en plus faibles proportions les projections latérales. Des études d'électrophysiologie et d'autoradiographie démontrent que l'HbL envoie des efférences à l'ATV, l'HL (Herkenham et Nauta, 1977; Mok et Mogenson, 1974), au noyau accumbens (Herkenham et Nauta, 1977; Phillipson et Griffiths, 1985) et finalement aux noyaux supramammillaires (Kiss, Csaki, Bokor, Kocsis et Kocsis, 2002). Plusieurs structures thalamiques sont des cibles pour l'HbL. Parmi ces structures, on retrouve le noyau dorsomedial, ventromedial et le noyau antérieur du thalamus (Akagi et Powell, 1968; Herkenham et Nauta, 1979; Yamadori, 1969). En plus des structures mentionnées ci-haut, l'HbL projette vers l'hypothalamus dorsomédial, l'aire préoptique latérale, le noyau entopédonculaire et la substance *innominata* (Akagi et Powell, 1968;

Herkenham et Nauta, 1977; Yamadori, 1969). Des études plus récentes, effectuées avec un traceur rétrograde, la toxine cholera B, démontrent que la zona *incerta* est aussi relié à l'HbL (Goto, Swanson et Canteras, 2001).

### ***1.2.5 Connexions entre l'habenula médian et l'habenula latéral***

Contrairement aux voies bien tracées d'entrée et de sortie des deux différentes divisions de l'Hb, peu d'information est connue par rapport à la connexion qui existe entre l'HbM et l'HbL. Par contre, tout récemment, un groupe de chercheurs a tenté d'élucider les circuits neuronaux locaux qui existent entre l'HbM et l'HbL afin de mieux comprendre comment l'information est traitée et intégrée dans ce complexe. Ils sont parvenus à démontrer qu'un groupe de cellules comprises dans l'HbM génèrent des axones qui se déplacent horizontalement vers l'HbL. Par contre, il fut établi qu'aucun axone compris dans l'HbL ne projette vers l'HbM (Kim et Chang, 2005). On comprend donc que l'information qui est générée vers l'HbM peut être communiquée en partie vers l'HbL par des connexions horizontales, mais le processus inverse semble être absent. Malgré que cette étude démontre la présence de connexions entre les deux sous-divisions de l'Hb, le rôle de cette relation demeure toujours inconnue.

En conclusion, l'Hb constitue une connexion entre le cerveau antérieur et le cerveau postérieur. L'origine des afférences de l'Hb ainsi que les nombreuses efférences qui sont générées par ce groupe de noyaux sont diverses et touchent l'ensemble du cerveau. Jusqu'à présent, il semble que la seule structure qui projette vers l'HbM et l'HbL soit la bande diagonale de Broca. Par contre, basés sur les nombreuses différences qui existent entre les deux principaux sous-noyaux de l'Hb, soit l'HbM et



l'HbL, nous sommes en mesure de prétendre que ces deux sous-divisions sont des systèmes distincts qui projettent vers diverses régions de l'encéphale antérieur et postérieur.

### **1.3 Études de lésions**

Plusieurs études utilisent la technique des lésions pour déterminer le circuit neuronal impliqué dans le renforcement. Différents sites dans le cerveau ont été lésés pour observer l'effet sur le comportement d'autostimulation. Le raisonnement derrière cette technique est basée sur le postulat que la destruction des cellules (ou axones) à l'intérieur d'une structure suite à la lésion devrait se refléter par une dégradation de l'efficacité renforçante de la stimulation. L'effet observé est lié au fait que la lésion détruit les corps cellulaires et les axones qui unient différentes structures entre elles. Du coup, la résultante est une altération de la communication interstructurale générée par une diminution du nombre d'axones disponibles pour produire des potentiels d'actions. Généralement, on pourrait s'attendre à observer un effet plus important et plus rapide sur le renforcement lorsque la lésion est située postérieure au site de stimulation puisque la communication interneurone est interrompue. Dans le même ordre d'idées, on s'attend à observer un effet plus lent et de plus faible amplitude lorsque la lésion est antérieure au site de stimulation puisque la communication interneurone demeure présente. Par contre, de nombreuses études effectuées par le passé déterminent l'effet de la lésion sur le renforcement en mesurant le taux de réponse. Comme décrite au préalable, la mesure du taux de réponse vient confondre les changements de performance avec les changements de renforcement. Des études plus récentes ont combiné la technique de lésion au paradigme de déplacement de la courbe. Cette combinaison des deux

techniques a rendu l'utilisation des lésions beaucoup plus utile. Dans la section qui suit, une brève description des études de lésions combinées au déplacement de la courbe sera présentée.

### *1.3.1 Les lésions électrolytiques*

La technique de lésion électrolytique consiste à détruire les tissus du cerveau par le passage d'un courant électrique. Suite au passage de ce courant, les corps cellulaires et les axones qui se trouvent à la pointe de l'électrode sont détruits. Cette technique est l'une des plus utilisées pour déterminer comment le comportement peut être modifié en éliminant l'influence d'un autre site. Par contre, bien que cette méthode nous ait fourni des connaissances pertinentes à propos des circuits neuronaux impliqués dans le renforcement, elle comporte quelques limitations. Cette méthode est irréversible, non sélective et, comme pour l'ensemble des techniques de lésions, des effets de compensation peuvent être obtenus suite à la lésion.

#### *1.3.1.1 Lésion du cerveau antérieur*

Une étude effectuée par le passé propose que les neurones directement activés lors de la stimulation au niveau du FMP proviennent du cerveau antérieur et descendent au niveau de l'ATV (Bielajew et Shizgal, 1986). L'une des structures suspectées d'être impliquées dans ces circuits neuronaux est l'amygdale. Tout d'abord, cette structure possède des caractéristiques fonctionnelles et anatomiques qui suggèrent un rôle important dans cet ensemble de circuits. Des études rapportent que cette structure supporte l'autostimulation (Kane, Coulombe et Miliaressis, 1991; Panagis, Miliaressis, Anagnostakis et Spyraiki, 1995; Touzani et Velley, 1998). De plus, on constate que les faisceaux de la SM et de l'amygdalofugal ventral sont deux systèmes de fibres majeurs

qui relie l'amygdale au FMP (Han et Ju, 1990; Prewitt et Herman, 1998). Finalement, cette structure semble importante dans le renforcement et l'addiction aux drogues d'abus (Koob, 1998; Koob et Le, 2001).

Basés sur ces études, Waraczynski et ses collègues (1990) ont effectué une étude qui avait pour objectif d'étudier le rôle des neurones de l'amygdale sur l'autostimulation au niveau de l'HL et de l'ATV. Ils ont observé que chez neuf rats, la lésion des noyaux médians et basolatéraux, localisés à proximité de la division centrale du complexe amygdaloïde, ne produit aucun effet sur le renforcement. Ce résultat suggère que les régions médianes et basolatérales de l'amygdale ne constituent pas une source majeure de fibres responsables du renforcement au niveau du FMP (Waraczynski, Ton et Shizgal, 1990).

Dans le même ordre d'idées, Bielajew et ses collègues ont étudié l'effet de la lésion des régions sous-corticales et adjacentes aux sous noyaux de l'amygdale sur le renforcement au niveau du FMP (Bielajew, Miguelez et Shiao, 2002). Sur les vingt-sept rats présents dans l'étude, cinq ont eu un effet substantiel suite à la lésion ; soit une augmentation du seuil de stimulation de plus de 225 %. Cinq autres ont eu une légère diminution du seuil de renforcement et dix-sept n'ont eu aucun effet. Suite à l'analyse de l'emplacement des électrodes de lésions pour chacun des sujets, les résultats suggèrent que, contrairement au résultat démontré dans l'étude de Waraczynski, présenté ci-haut, les noyaux de la région sous-corticale de l'amygdale puissent être importants dans la modulation du renforcement au niveau de FMP (Bielajew et al., 2002).

L'étude la plus récente portant sur les connexions qui relient le complexe amygdaloïde au FMP a été effectuée par Miguelez et ses collègues (Miguelez, Kentner, Deslauriers, Parkinson, Fouriez et Bielajew, 2004). Ces derniers ont étudié l'effet de la lésion électrolytique des noyaux de l'amygdale ipsilatérale et contralatérale sur le renforcement au niveau du FMP (Miguelez et al., 2004). Leurs résultats supportent ceux discutés ci-haut qui indiquent que la région antérieure de la portion corticale du complexe amygdaloïde semble la plus importante dans le circuit cérébral du renforcement qui unit ces deux structures, puisqu'une diminution considérable du pouvoir renforçant de la stimulation est observée au niveau du FMP suite à la lésion de ces structures. De plus, leurs résultats démontrent que la lésion contralatérale semble diminuer le renforcement plus fortement que la lésion ipsilatérale, ce qui suggère une communication interhémisphérique entre l'amygdale et le FMP. Par contre, il est possible que la lésion de l'amygdale ait produit des dommages à un site efférent au FMP.

Dans le même ordre d'idées, des études psychophysiques suggèrent que des fibres de renforcement descendantes forment une connexion entre l'HL et l'ATV (Bielajew et Shizgal, 1982; Bielajew et Shizgal, 1986; Shizgal, Bielajew, Corbett, Skelton et Yeomans, 1980). Afin de connaître l'origine de ces fibres, Murray et Shizgal ont déterminé comment la lésion électrolytique de la partie préoptique antérieure de l'hypothalamus pouvait affecter l'ASI dans le FMP (Murray et Shizgal, 1991; Murray et Shizgal, 1996). Les résultats obtenus démontrent que lorsque la lésion se situe dans l'HL antérieur, une augmentation du seuil de récompense de 0.1-0.2  $\log_{10}$  units est observée chez 5 rats sur 7 et ce durant les 27 jours de test. Ces résultats suggèrent donc que les

projections qui proviennent ou qui se terminent dans la portion antérolatérale du FMP jouent un rôle important dans le renforcement de l'HL et de l'ATV (Murray et Shizgal, 1991; Murray et Shizgal, 1996). Une étude effectuée par Gallistel et ses collègues (1996) avait pour objectif de déterminer le rôle de différentes structures du FMP antérieur dans le renforcement des sites postérieurs de ce faisceau et vice versa (Gallistel, Leon, Lim, Sim et Waraczynski, 1996). Les résultats de leur étude démontrent que chez 10 rats présents dans l'étude, la destruction quasi totale du FMP au niveau de l'hypothalamus antérieur augmente le seuil de renforcement au niveau de l'ATV de 30 % ( $0.15 \log_{10}$  units) à un courant de 800  $\mu$ Amp et de 45 % ( $0.25 \log_{10}$  units) à un courant de 400  $\mu$ Amp. Dans le même ordre d'idées, Gallistel et ses collègues ont étudié l'effet de la lésion de l'ATV sur le renforcement au niveau du FMP. Ces résultats démontrent que chez 7 rats, la destruction quasi totale de l'ATV postérieure, produit une augmentation du seuil de renforcement de 54 % ( $0.36 \log_{10}$  units) à un courant de 800  $\mu$ Amp et de 87 % ( $0.89 \log_{10}$  units) à un courant de 200  $\mu$ Amp. Ces résultats suggèrent que la lésion est plus efficace lorsque cette dernière est postérieure par rapport à l'électrode de stimulation (Gallistel et al., 1996). D'autres chercheurs se sont intéressés à la relation qui existe entre la partie antérieure et postérieure du FMP. Gallistel et ses collègues ont évalué la relation fonctionnelle qui unit l'HL à l'ATV (Simmons, Ackermann et Gallistel, 1998). Ils ont implanté une électrode de stimulation dans l'ATV et une électrode de lésion au niveau de l'HL. En accord avec plusieurs études effectuées par le passé, la lésion de l'HL a augmenté le seuil de récompense de 0.1-0.4  $\log_{10}$  units chez quatre rats pour une durée approximative de 10 jours. Par contre, huit rats n'ont eu aucun effet. Afin d'expliquer ces résultats variables, ils proposent qu'en plus de la présence des fibres comprises dans le FMP, il est fort probable que des

connexions collatérales présentes dans le cerveau postérieur seraient en mesure de compenser pour la perte des axones compris dans le FMP. Une explication alternative est offerte par les données préliminaires de Malette et Miliaressis (1995) qui appuie l'hypothèse d'une trajectoire interhémisphérique des fibres responsables de l'ASI entre l'HL et l'ATV (Malette et Miliaressis, 1995).

#### *1.3.1.2 Lésions du cerveau médian et postérieur*

Afin d'évaluer le rôle potentiel de la matière grise du mésencéphale et du RD sur le pouvoir renforçant de la stimulation au niveau du FMP, des électrodes de stimulation ont été implantées dans l'HL et au niveau de l'ATV chez chacun des rats. Par la suite, une lésion électrolytique ipsilatérale au site de stimulation était effectuée au niveau de la matière grise centrale ou bien au niveau du RD (Waraczynski, Carlton et Perkins, 1998). Les données indiquent que la lésion au niveau de la matière grise du mésencéphale et du RD avait un effet minime sur le pouvoir renforçant de la stimulation au niveau du FMP. Par contre, on constate une augmentation du renforcement d'environ  $0.10 \log_{10}$  units au niveau de l'ATV chez un rat ayant une lésion plus ventrale, soit au niveau du RM.

Une seconde étude avait pour objectif d'examiner l'effet de la lésion ipsilatérale du tegmentum pedonculopontin et du tegmentum laterodorsal sur le pouvoir renforçant de la stimulation au niveau du FMP. Les résultats obtenus par Waraczynski démontrent que dans la majorité des cas, la lésion unilatérale du tegmentum latérodorsal et du tegmentum pedonculopontin produit un changement de l'ordre de  $0.10 \log_{10}$  units sur le pouvoir renforçant de la stimulation au niveau du FMP (Waraczynski et Perkins, 1998).

D'autres études ont été effectuées pour caractériser le rôle des structures comprises dans le cerveau postérieur. Ces dernières suggèrent que les neurones du mésencéphale postérieur représentent ou constituent une extension caudale des circuits qui sont impliqués le renforcement au niveau du FMP (Rompré et Boye, 1989; Rompré et Miliaressis, 1985; Waraczynski et Perkins, 1998). L'objectif de l'étude effectuée par Boye était d'évaluer le lien fonctionnel entre le FMP et le mésencéphale postérieur dans le circuit de renforcement (Boye, 2005). Des lésions électrolytiques unilatérales du mésencéphale postérieur furent effectuées et l'effet sur le renforcement était évalué au niveau de l'ATV. Les résultats obtenus démontrent une légère atténuation de l'efficacité de la stimulation comprise au niveau de l'ATV suite à la lésion centrale ou latérale du mésencéphale postérieur chez cinq rats. À l'inverse, une amélioration du renforcement compris entre 0.1-0.4  $\log_{10}$  units au niveau de l'ATV est plus clairement observée avec une lésion latérale et plus particulièrement lorsque la lésion est contralatérale au niveau de l'ATV, et ce, chez quatre rats. Généralement, l'effet était observé pour une durée de deux semaines suivant la lésion. Ces résultats sont donc compatibles avec l'hypothèse que le substrat neuronal, important pour l'effet renforçant de la stimulation, est largement distribué dans le mésencéphale postérieur (Boye, 2005).

D'autres structures du cerveau postérieur ont suscité l'intérêt des chercheurs. Parmi ces structures, on retrouve le noyau parabrachial. Il est démontré dans la littérature que l'ASI est obtenu dans ce site à de faibles seuils de stimulation (Simon, Le et Cardo, 1975). L'étude entreprise par Waraczynski et Shizgal (1995) avait pour objectif de déterminer comment la lésion de la région parabrachial peut influencer le renforcement au niveau du FMP (Waraczynski et Shizgal, 1995). Pour y arriver, ils ont

implanté une électrode de lésion dans le noyau parabrachial et les électrodes de stimulations étaient situées dans l'HL et/ou dans l'ATV. Suite à l'analyse des résultats, on constate que deux rats ont une augmentation substantielle du seuil de récompense suite à la lésion de cette structure. Comparativement aux autres rats, la lésion chez ces individus avait atteint la région ventrale du pédoncule supérieur. De ce fait, on constate que le pouvoir renforçant de la stimulation au niveau du FMP n'est pas diminué par une lésion du noyau parabrachial, mais lorsque la région pédonculopontine est atteinte, une diminution du renforcement est observée. Ces résultats vont à l'opposé de ceux obtenus par d'autres chercheurs (Boye, 2005). Ce paradoxe vient probablement du fait que dans l'étude de Boye (2005), une augmentation du renforcement est observée lorsque la lésion est contralatérale au site de stimulation, tandis que dans l'étude de Waraczynski et Shizgal (1995) la lésion est ipsilatérale au site de stimulation. La structure la plus postérieure à avoir suscité l'intérêt du groupe de recherche (Acheson, Waraczynski et Perkins, 2000) est le nerf trijumeau (Mo5) et ses environs. Le Mo5 et ses environs, qui incluent le pédoncule cérébelleux supérieur, sont reconnus comme étant un site générant l'ASI chez l'animal (Crow et al., 1972; Micco, Jr., 1974; van der Kooy et Phillips, 1979). De plus, une seconde étude démontre que les cellules comprises dans l'HL ont des axones qui projettent dans la région du Mo5 et du pédoncule cérébral supérieur (Holstege, 1987). Les résultats obtenus lors de cette recherche démontrent que chez sept rats, la lésion ipsilatérale du Mo5 ne produit aucun effet sur le renforcement au niveau de l'HL. Par contre, les lésions contralatérales et bilatérales produisent chez certains individus une augmentation du seuil de renforcement de l'ordre de  $0.15 \log_{10}$  units (Acheson et al., 2000).



En résumé, l'ensemble des études utilisant les lésions électrolytiques a permis de donner des pistes sur l'arrangement des circuits neuronaux impliqués dans le renforcement. Par contre, on constate une très grande variabilité dans les résultats obtenus. Cette variabilité est en grande partie générée par la difficulté de produire deux animaux avec des sites de stimulation et de lésion identiques et avec le même alignement entre les deux électrodes. Toute porte à croire qu'une différence si petite soit telle peut générer des résultats complètement différents. De plus, plusieurs évidences laissent croire que certaines connexions collatérales provenant du cerveau postérieur auraient la capacité de compenser pour la perte neuronale en amont du site de stimulation. Ce phénomène est principalement observé dans les études où la lésion des sites antérieurs du FMP ne produit pas une interruption complète du renforcement aux sites postérieurs de ce même faisceau. Finalement, l'ensemble des résultats présentés dans cette section nous confirme une seconde fois que la circuiterie impliquée dans le renforcement est largement distribuée dans l'ensemble de l'encéphale.

### *1.3.2 Lésions mécaniques*

La lésion mécanique, quant à elle, consiste à sectionner les liens qui relient différents sites dans le cerveau à l'aide d'un petit couteau. Le principal avantage de cette technique par rapport à la lésion électrolytique est qu'elle permet de mieux contrôler la dégénérescence antérieure et postérieure des axones puisque la lésion n'est pas tridimensionnelle. L'un des effets les plus clairs des lésions sur le seuil de récompense au niveau du FMP fut obtenu par une lésion non sélective des sites postérieurs au FMP (Janas et Stellar, 1987). La méthodologie utilisée dans cette étude est la lésion de la partie antérieure du FMP au niveau de l'aire préoptique latérale pour en évaluer l'effet

sur une partie plus caudale du FMP. Comme observé précédemment dans les études de lésions électrolytiques, une augmentation des seuils de renforcement est obtenue suite à la lésion de sites compris dans le FMP, mais l'abolition complète du renforcement n'est pas observée (Janas et Stellar, 1987). Les résultats obtenus sont une augmentation du seuil de récompense comprise entre 0.16-0.5  $\log_{10}$  units chez trois des quatre rats durant dix jours post-lésion. Chez quatre autres sujets, une augmentation du seuil de récompense de 0.28  $\log_{10}$  units fut observée, mais uniquement pour le premier jour du test. De plus, lorsque la lésion était déplacée vers un site plus antérieur au FMP, soit la commissure antérieure, une augmentation du seuil de récompense de 0.17-0.19  $\log_{10}$  units était observée chez deux sujets, mais uniquement pour le premier jour du test. Une troisième étude effectuée par la même équipe (Waraczynski, 1988) a démontré que la lésion de l'aire préoptique latérale à l'aide d'un couteau résulte en une grande variabilité des effets sur la stimulation au niveau des sites postérieurs à la lésion (HL et VTA). Dans le premier groupe à l'étude, une augmentation des seuils de stimulation de 0.1-0.3  $\log_{10}$  units fut observée chez six rats, et ce, pour une durée de sept jours post-lésions. Le second groupe, ayant une lésion similaire, a produit un effet transitoire sur le seuil de récompense. Finalement, on constate chez le troisième groupe, présentant une lésion plus médiane de l'aire préoptique latérale, une diminution du seuil de récompense au niveau de l'HL et du VTA. Lorsque la lésion est effectuée très près du site de stimulation HL, seulement un rat produit une augmentation substantielle, et ce, pour 12 jours consécutifs. Les autres lésions n'ont eu aucun effet sur le seuil de récompense.

L'ensemble de ces études nous démontrent que la rupture des connexions entre les sites antérieurs et postérieurs du FMP semble avoir un impact sur le seuil de

récompense. Par contre, on aurait pu s'attendre à un effet plus grand sur le renforcement du à la taille de la lésion au niveau du FMP. Ceci propose que des voies alternatives puissent compenser pour la perte des axones dans le FMP en augmentant leurs taux de décharges.

### *1.3.3 Lésions pharmacologiques*

Les lésions pharmacologiques sont une manière plus sélective de détruire le substrat neuronal par rapport à toute autre lésion. Par exemple, certaines molécules, comme l'acide iboténique, reconnaissent un récepteur particulier (ex. : Kainate, NMDA). Une fois fixé au récepteur elle produira une hyperactivité de la cellule observée par une augmentation des taux de décharges et ce, jusqu'à la mort cellulaire (toxicité). Par contre, d'autres substances sont des neurotoxines, ce qui leur donne la possibilité de pénétrer dans la cellule et de la détruire (Ex. : 6-OHDA). L'utilisation des lésions pharmacologiques a pour objectif d'identifier quels noyaux du cerveau génèrent les cellules importantes pour le renforcement. Si nous parvenions à les identifier, nous pourrions voir quels types de cellules sont compris dans ces noyaux, quels neurotransmetteurs elles contiennent, où sont dirigées leurs projections, etc. Par contre, si les corps cellulaires dans un noyau sont détruits et aucun changement dans le comportement n'est observé, ceci porte à croire que ce noyau ne serait pas impliqué dans le comportement étudié. Pour réaliser ce type de lésion, une canule est implantée dans le site que l'on désire léser et une neurotoxine est injectée à la concentration désirée. En autostimulation, les substances le plus fréquemment utilisées sont l'acide N-méthyl-D-aspartate (NMDA), l'acide iboténique (IBO) et l'acide Kainate. Ces trois substances agissent en détruisant le corps cellulaire du neurone.

### 1.3.3.1 Lésion du cerveau antérieur

Tel que démontré dans la section précédente, les lésions électrolytiques effectuées dans l'HL et au niveau de l'amygdale ont produit une diminution du pouvoir renforçant de la stimulation au niveau des sites plus caudaux du FMP, soit au niveau de l'HL et de l'ATV (Murray et Shizgal, 1996). Le groupe de recherche de Arvanitogiannis, ont reproduit ces études, mais cette fois en utilisant les lésions excitotoxiques afin de déterminer la contribution de l'HL et de l'ATV dans cet effet. Dans leur étude, le NMDA était injecté par une canule au niveau des sites basaux du cerveau antérieur, soit au niveau de l'aire préoptique médiane et de la substance *inominata*. Par la suite, le renforcement était mesuré au niveau de l'HL et du VTA. La principale découverte de cette étude est que lorsque la lésion englobe l'aire préoptique latérale, l'HL antérieur et la substance *inominata*, une augmentation du seuil de récompense de 0.1-0.25 log<sub>10</sub> units est observée. Cet effet est observé aux deux sites de stimulation, et ce, pour toute la durée de l'étude (entre 12-25 jours). Par contre, les rats ayant une lésion plus dorsale présentent un effet modéré ou transitoire suite à la lésion. Ces résultats supportent donc l'hypothèse que les corps cellulaires dans l'encéphale antérieur, compris dans l'aire préoptique latérale, l'HL antérieur et au niveau de la substance *inominata*, génèrent des axones qui constituent les fibres nerveuses directement activées et responsables de l'effet de renforcement positif induit par la stimulation électrique du FMP (Arvanitogiannis, Riscaldino et Shizgal, 1999; Arvanitogiannis, Waraczynski et Shizgal, 1996b). Une seconde étude effectuée par Arvanitogiannis et ses collègues, avait pour objectif d'évaluer le changement du pouvoir renforçant de la stimulation suite à une lésion excitotoxique des structures médianes du cerveau antérieur basal qui inclus l'aire préoptique médiane et le noyau de la stria terminalis (Arvanitogiannis et al., 1999). Les

résultats de cette étude sont très variables et les données histologiques obtenues suite à l'analyse des tissus révèlent que la lésion est située dans un site plus médian. De ces données, on peut conclure que les neurones qui ont leur corps cellulaire dans la portion médiane du cerveau antérieur basal produisent une diminution du renforcement moins importante que lorsqu'un site latéral est lésé (Arvanitogiannis et al., 1999).

#### *1.3.3.2 Lésion des neurones intrinsèques de l'hypothalamus*

Suite aux études portant sur le rôle des sites compris dans le cerveau antérieur, d'autres chercheurs ont tenté de comprendre le rôle des cellules intrinsèques de l'HL dans le renforcement. Pour y arriver, ils ont effectué des lésions excitotoxiques avec l'une des neurotoxines présentées au préalable (NMDA, IBO) et évaluaient l'impact de cette lésion sur l'HL elle-même et sur des sites antérieurs et postérieurs à cette structure comprise dans le FMP. On constate à l'aide de ces études, que la dépopulation au niveau des corps cellulaires de l'HL, produit une diminution du renforcement en amont et en aval de la lésion de 0.1-0.2  $\log_{10}$  units. Ces résultats portent à croire que les neurones compris à l'intérieur de l'HL pourraient jouer un rôle dans le renforcement au niveau des sites distribués dans le FMP (Lestang, Cardo, Roy et Velley, 1985; Nassif, Cardo, Libersat et Velley, 1985; Sprick, Munoz et Huston, 1985; Velley, 1986b; Velley, Verney, Kempf et Berger, 1988)

#### *1.3.3.3 Lésion du cerveau médian et postérieur*

Le FMP lui-même est probablement le site ayant reçu le plus d'attention. Une étude avait pour objectif de déterminer l'effet d'une lésion à l'acide iboténique au niveau de l'HL médian sur l'autostimulation au niveau des régions postérieures et antérieures au

site lésé (Velley, 1986a). Suite à l'interprétation des résultats, une légère augmentation du seuil de stimulation est observée lorsque l'électrode de stimulation se trouve près de la région lésée. Lorsque la lésion se trouve au niveau de l'HL médian, aucun effet n'est observé sur le renforcement au niveau des sites antérieurs au site de lésion. Lors de l'analyse histologique, ils ont constaté que la lésion de l'HL avait atteint, dans la majorité des cas, la région dorsolatérale de l'aire préoptique latérale du pallidum ventral, le complexe de la substance *inominata* et la partie latérale du noyau de la SM. Les résultats de cette étude fournissent des données contradictoires avec celles obtenues par Arvanitogiannis et ses collègues (1996). Ces derniers avaient observé une augmentation du seuil de renforcement de l'ordre de  $0.10-0.25 \log_{10}$  units suite à la lésion de ces structures. Toujours dans l'objectif d'étudier la relation qui unit les différents sites impliqués dans le renforcement, une étude fut effectuée dans le but d'éclaircir le lien qui unit l'hippocampe à l'ATV. La lésion dans cette étude a été effectuée bilatéralement à l'aide de l'acide Kainate à l'intérieur de l'hippocampe. On constate que la lésion produit une augmentation légère du renforcement soit de  $0.10 \log$  unit. (Kelley et Mittleman, 1999). Ce qui semble suggérer que les corps cellulaires qui proviennent de l'hippocampe ne jouent pas un rôle majeur dans le renforcement au niveau de l'ATV.

L'ensemble des études effectuées à l'aide des lésions pharmacologiques a permis, dans certains cas, de valider les données obtenues par le passé à l'aide des lésions électrolytiques. Cependant, le but premier de ces études, qui étaient de déterminer la contribution des corps cellulaires par une lésion spécifique, ne fut pas un succès. Malencontreusement, bien que l'on croyait que cette technique était beaucoup

plus spécifique que la lésion électrolytique, le groupe de recherche d'Arvanitogiannis (1998) ont observé une démyélinisation d'environ 20-25 % des axones suite à la lésion excitotoxique et ce à une concentration de NMDA de 70 nmol (Arvanitogiannis et al., 1999). De plus, une étude publiée par Brace et ses collègues (1996) démontrent qu'une démyélinisation est belle et bien présente et ce à des doses de 30 nmol et plus de NMDA (Brace, Latimer et Winn, 1997). Puisque l'ASI est intimement reliée à la conduction neuronale, des hypothèses portent à croire que l'effet observé pourrait être la résultante de : 1) la destruction des corps cellulaires 2) de la démyélinisation ou 3) les deux.

Contrairement aux résultats attendus on constate parfois que malgré une lésion de grande taille, l'effet observé sur le renforcement est transitoire et ou de faible amplitude. La première hypothèse suggérée pour expliquer l'effet transitoire des lésions permanentes pourrait être le développement d'un système de compensation qui s'activerait pour contrecarrer la perte neuronale générée par la lésion. Ce qui serait médié par une plasticité synaptique qui semblerait être suffisamment importante pour rétablir le comportement au niveau de base, et ce, assez rapidement. On peut donc conclure que peu importe la technique utilisée pour générer des lésions permanentes, plusieurs facteurs peuvent produire des résultats difficiles d'interprétation.

#### ***1.3.4 Lésion temporaire***

Pour générer l'inactivation temporaire, un anesthésique local, la lidocaïne, est utilisé. Cette drogue est injectée par une canule dans un site prédéterminé. La lidocaïne agit au niveau du neurone en interférant avec le processus d'excitation et de conduction. Le blocage de la transmission nerveuse est le résultat de la diminution de la perméabilité

membranaire aux ions de sodium lors de la phase de dépolarisation (Ascher, Large et Rang, 1979). Cet effet est donc présent jusqu'à l'élimination complète du composé par l'organisme de l'animal. C'est pourquoi cette lésion est réversible. La première étude effectuée par Waraczynski et Perkins (2000) avait pour objectif d'évaluer la contribution de la partie médiane par rapport à la partie ventrale du complexe amygdaloïde dans l'effet renforçant de la stimulation au niveau du FMP rostral et caudal (Waraczynski et Perkins, 2000). Les résultats démontrent que la diminution du renforcement au courant le plus bas suite à l'inactivation temporaire de la portion centrale du complexe amygdaloïde est plus importante en présence d'une lésion bilatérale ( $0.30 \log_{10}$  units) qu'ipsilatérale ( $0.15 \log_{10}$  units) au site de stimulation (FMP) et ce uniquement dans les 15 minutes suivant l'administration de la lidocaïne aux sites de lésions. Par contre, l'inactivation de la partie médiane du complexe amygdaloïde ne produit pas d'effet constant sur le renforcement au niveau du FMP, excepté lorsque cette structure est elle-même atteinte par cette lésion. Ces résultats supportent donc les résultats obtenus au préalable par le même groupe de recherche lors de l'utilisation des lésions électrolytiques (Waraczynski et al., 1990). Une seconde étude effectuée par Waraczynski (2003) impliquant l'inactivation du pallidum ventral a produit une diminution modérée du renforcement au niveau du FMP. La variation dans le renforcement suite à l'inactivation est significativement inférieure à celle générée lors de l'inactivation de la partie centrale du complexe amygdaloïde. Ce qui porte à croire que le pallidum ventral aurait un rôle moins important à jouer dans le renforcement que la partie centrale du complexe amygdaloïde. De plus, on constate une diminution du renforcement uniquement lorsque la lésion de la partie ventrale du pallidum est inactivée (Waraczynski, 2003) .



Les études de lésions ont fourni des informations relativement importantes dans la compréhension des circuits qui relient les différentes structures du cerveau qui supportent le renforcement. En résumé, l'ensemble des techniques utilisées pour effectuer les lésions a démontré que les régions basales du cerveau antérieur ainsi que les régions postérieures sont importantes pour obtenir un renforcement au niveau du FMP. Le site qui semble le plus important serait situé dans ou à proximité de l'extension centrale de l'amygdale (Bielajew et al., 2002; Waraczynski, 2003; Waraczynski et Perkins, 2000; Waraczynski et al., 1990). De plus, les lésions dans le MFB postérieur semblent plus efficaces que celles situées dans le MFB antérieur (Simmons et al., 1998). Finalement, l'utilisation des lésions temporaires a permis de voir que la portion centrale du complexe amygdaloïde, le complexe magnocellulaire postérieur et des les régions rétrobulaires sont importants pour l'obtention du renforcement au niveau du FMP (Waraczynski, 2003; Waraczynski et Perkins, 2000).

## **1.4 Présentation du projet de recherche**

### ***1.4.1 Présentation des objectifs***

À la suite de l'élaboration de l'ensemble de ces résultats obtenus par le passé, le projet de recherche sur lequel porte ce travail avait pour objectif de déterminer le rôle de l'Hb dans les circuits cérébraux impliqués dans le renforcement positif. Le choix de cette étude est basé sur les observations suivantes : premièrement, certains sites à l'intérieur de l'Hb supportent l'ASI (Sutherland et Nakajima, 1981; Vachon et Miliaressis, 1992). Deuxièmement, les cellules qui médient l'ASI à l'intérieur de l'Hb ont une période réfractaire comparable aux cellules qui génèrent l'ASI au niveau du FMP (Vachon et Miliaressis, 1994). De plus, plusieurs sites compris dans le FMP augmentent

l'immunoréactivité de FOS (Arvanitogiannis et al., 1996a; Arvanitogiannis et al., 1997; Arvanitogiannis et al., 2000; Hunt et McGregor, 1998; Hunt et McGregor, 2002) et le métabolisme oxydatif (Bielajew, 1991), au niveau de l'HbL. Finalement, les lésions du FMP et du RM augmentent et réduisent respectivement le taux de réponse au niveau de l'Hb suite à la stimulation (Sutherland et Nakajima, 1981). Il est donc pertinent de suspecter que cette structure a un rôle à jouer dans le renforcement positif. Pour tester cette hypothèse, la lésion électrolytique de l'Hb a été combinée au paradigme de déplacement de la courbe afin de permettre d'étudier la relation fonctionnelle entre l'Hb et quatre autres sites connus pour supporter l'ASI c'est-à-dire : HL, ATV, RD et le RM. Le choix d'une lésion électrolytique par rapport à une lésion pharmacologique est basé sur le fait qu'à ce jour on ne connaît pas l'origine des corps cellulaires contenues dans l'Hb.

#### ***1.4.2 Présentation de l'hypothèse***

L'hypothèse suivante est proposée sur la base des résultats présentés dans les sections précédentes.

**Hypothèse :** Si l'Hb forme une partie du circuit inhérent au renforcement qui lie différents sites le long du faisceau médian proencéphalique et du mésencéphale postérieur, ou encore qui constitue une étape efférente de ce système, la destruction de l'Hb devrait se refléter par une dégradation du renforcement induit aux sites situés dans ce circuit

## **2. Méthodologie**

Les méthodes utilisées pour la réalisation de ce projet seront présentées brièvement dans la section qui suit. Une description plus détaillée peut-être trouvée dans la section Materials and Methods de l'article présenté dans la section suivante.

### *2.1 Sujets*

30 rats Long Evans ayant un poids compris entre 300-325g sont utilisés comme sujets expérimentaux. Les rats sont hébergés dans une pièce où la température et l'humidité sont contrôlées. Les animaux ont libre accès à la nourriture et à l'eau. La phase lumineuse est comprise entre 6 h 30 et 18 h 30. Toutes les expérimentations sont effectuées entre 9 h et 15 h, et ce, en accord avec les lignes directrices établies par le Conseil Canadien de la Protection des Animaux.

### *2.2 Chirurgie*

Chaque animal (poids variant entre 350-375g) reçoit avant la chirurgie une injection d'atropine méthyl nitrate (0.05 mg/kg, i.p) afin de réduire les sécrétions au niveau pulmonaire. Vingt minutes après cette injection, l'animal est anesthésié avec du sodium pentobarbital sodique (Somnotol, 65 mg/kg, i.p). Par la suite, l'animal est installé dans l'appareil stéréotaxique. Basée sur les coordonnées déterminées à l'aide de l'atlas du cerveau de rat (Paxinos G et Watson C, 1997) une électrode de stimulation monopolaire faite d'acier inoxydable est implantée dans l'HL (AP : -2.8, ML : +1.8, DV : -8.2), dans l'ATV (AP : -5.2 à -5.6, ML : +0.5 à -0.8, DV : -7.8 à -8.2), dans le RD (AP : -7.8, ML : 0, DV : -7.0) ou bien dans le RM (AP : -7.8, ML : 0, DV : -8.6). De plus, une électrode de lésion est implantée dans l'Hb ipsilatérale au site de stimulation (AP : -3.6 à -3.8, ML : +0.6, DV : -5.3). Chaque coordonnée est prise à partir de bregma. La seule

différence entre l'électrode de stimulation et l'électrode de lésion est que la seconde n'est pas testée pour voir si elle génère un comportement d'ASI. Quatre vis insérées dans le crâne sont utilisées comme point d'ancrage à l'électrode indifférente. Par la suite, du ciment dentaire est versé sur le crâne pour permettre de fixer l'ensemble des électrodes à la boîte crânienne. Suite à la chirurgie, les animaux ont droit à une période de rétablissement de 7 jours.

### ***2.3 Appareillage***

Les tests comportementaux sont effectués dans des chambres dont les côtés sont construits à l'aide de bois pressé et dont la façade est faite de plexiglas. Chaque chambre est équipée d'un trou (3cm de diamètre) par lequel l'animal entre son nez pour recevoir une stimulation. À l'intérieur de ce trou, on retrouve des photocellules infrarouges qui détectent la présence de l'animal. Afin de minimiser le dérangement occasionné par le bruit, les chambres sont placées dans des boîtes en bois isolées à l'aide de styromousse. Une fenêtre en plexiglas à l'avant de cette boîte permet d'observer l'animal en tout temps. Chaque interruption de la photocellule par l'animal déclenche un générateur de courant constant qui délivre une salve de 400 msec de pulsions cathodiques rectangulaires d'une durée de 0.1 msec. Chaque série de pulsions est suivie d'un intervalle de 600 msec pendant lequel la stimulation n'est pas disponible. Les salves de pulsions sont délivrées selon un horaire FI-1s. L'intensité du courant est vérifiée par un oscilloscope.

## ***2.4 Entraînement***

Une semaine après la chirurgie, on entraîne les rats à s'auto-stimuler. L'apprentissage du comportement opérant se fait généralement dans les dix premières minutes du test. Une fois le comportement acquis, on laisse l'animal s'auto-stimuler librement pendant 60 minutes pour trois jours consécutifs. Durant une période d'environ dix jours, l'animal est testé de manière répétée sur une séquence successive de pulsions. Cette gamme complète de pulsions caractérise l'ensemble du comportement de l'animal de la réponse minimale jusqu'à la réponse maximale (courbe taux de réponse-pulsions). Chaque pulsion est testée pour une durée de 45 secondes et est immédiatement suivie d'une période de 30 secondes où la stimulation n'est pas disponible pour l'animal. Sept courbes taux de réponse-pulsions sont effectuées chaque jour et, à partir de ces courbes, on détermine la fréquence des pulsions requises pour induire un taux de réponses égal à 50% du taux maximal (niveau asymptotique) (M50). Plusieurs intensités de courant sont testées pour chaque rat afin d'obtenir les trois courants qui produiront des seuils séparés d'environ  $0.3 \log_{10}$  units, soit 10, 20, 40 pulsions/salves.

## ***2.5 Lésion électrolytique***

Lorsque les seuils de références (ligne de base) sont stables pour trois jours consécutifs, la lésion est effectuée par un passage d'un courant direct anodal au travers de l'électrode de lésion située dans l'Hb (100 $\mu$ A, 20-25 sec). L'animal n'est pas anesthésié durant la lésion et est libre de tout mouvement. Aucun signe aversif ne fut remarqué pour l'ensemble des rats dans cette étude.

## ***2.6 Histologie***

À la fin des tests d'ASI, les animaux sont anesthésiés avec de l'uréthane et les sites de stimulations sont marqués par le passage d'un courant direct anodale à la pointe de l'électrode (100 $\mu$ A, 15 sec). Par la suite, les rats sont perfusés transcordialement avec de la saline (0.9 %), suivi d'une solution de formaline 10% contenant 3% de potassium ferrocyanide, 3 % de potassium ferricyanide et de 0.5 % d'acide trichloroacétique. La réaction produite entre la solution utilisée pour la perfusion et les ions déposés suite au marquage produit un point bleu visible qui représente le site de stimulation. Lorsque le cerveau est retiré de la boîte crânienne, il est conservé dans une solution de formaline contenant 30 % de sucrose. Après trois jours, le cerveau est congelé et coupé en tranches de 40 $\mu$ m qui sont déposées sur des lames recouvertes de gélatine. Les coupes de tissus ont été colorées avec de la thionine et la position de la lésion et de l'électrode de stimulation est déterminée par microscopie.

### **3. Article publié dans à Behavioural Brain Research**

**Electrolytic lesions of the habenula attenuate brain  
stimulation reward**



### **Apport original de l'étudiant à l'article présenté**

En collaboration avec ma directrice de recherche, Dre. Sandra Boye, j'ai contribué à l'élaboration des méthodologies nécessaires pour obtenir les résultats désirés. J'ai effectué toutes les étapes des protocoles en laboratoire sous la supervision du Dre. Sandra Boye. De plus, j'ai effectué la compilation ainsi que l'interprétation des résultats. Mes contributions à l'article furent donc de fournir les résultats nécessaires et de participer à l'écriture de la méthodologie ainsi qu'à l'interprétation des résultats.

### **Résumé**

Dans cette étude, nous avons utilisé la technique des lésions électrolytiques combinées au paradigme du déplacement de la courbe afin d'étudier la relation fonctionnelle entre l'habenula et quatre autres sites reconnus pour supporter l'auto-stimulation intracérébrale. Une électrode de stimulation monopolaire était implantée dans l'hypothalamus latéral, l'aire tegmentaire ventrale, le raphé dorsal ou bien dans le raphé médian. Par la suite, l'animal est entraîné à s'autoadministrer des salves de pulsions électriques. Le nombre de réponses est mesuré à chaque pulsion provenant d'une série descendante de pulsions qui s'étendent de celle qui supporte la réponse maximale jusqu'à celle qui cause son extinction. Basé sur cette courbe dose-réponse, un index du renforcement est extrapolé (seuil de renforcement) et est défini comme étant la fréquence des pulsions requises pour induire un taux de réponse égal à 50 % du taux maximal (niveau asymptotique) (M50). Pour chaque rat, trois intensités de courant (élevé, moyen et bas) sont déterminées et correspondent approximativement à un seuil de récompense de 10, 20 et 40 pulsions/salves. Lorsque la réponse pour l'ensemble des courants est stable, une lésion ipsilatérale de l'habenula est effectuée. Le test se poursuivait 24 heures post-lésion pour une durée de 3 à 4 semaines. Dix-neuf rats ont

complété l'expérience. Pour cinq d'entre eux, la lésion de l'habenula a produit une réduction du pouvoir renforçant de la stimulation : les seuils de stimulation ont augmenté approximativement de 30-245 % ( $0.12-0.54 \log_{10}$  units). Généralement, les effets de la lésion sont observés aux intensités de courants bas et moyen, se développent graduellement et demeurent présents tout au long de l'étude. L'analyse histologique démontre que pour deux rats, une électrode de stimulation était située dans l'hypothalamus latéral postérieur, deux dans l'aire tegmentaire ventrale et une dans le raphé dorsal. Les résultats obtenus dans cette étude suggèrent que l'habenula constitue un lien fonctionnel important dans le circuit neuronal impliqué dans l'auto-stimulation intracérébrale.

**Mots clés :** Auto-stimulation intracérébrale, renforcement, habenula, aire tegmentaire ventrale, hypothalamus latéral, raphé médian, raphé dorsal



Research report

# Electrolytic lesions of the habenula attenuate brain stimulation reward

Marie-Claude Morissette, Sandra M. Boye\*

*Department of Psychiatry, Université de Montréal and Centre de Recherche Fernand-Seguin,  
Hôpital Louis-H. Lafontaine, 7331 Hochelaga, Montreal, Quebec, Canada H1N 3V2*

Received 6 August 2007; received in revised form 17 August 2007; accepted 20 August 2007

## Abstract

The present experiment used electrolytic lesions in combination with curve-shift scaling to study the functional relation between the habenula and four different brain sites that support operant responding for brain stimulation reward. Rats were implanted with a monopolar stimulation electrode aimed at the lateral hypothalamus, ventral tegmental area, dorsal raphe or median raphe nuclei, and a lesioning electrode in the ipsilateral habenula. Operant nose poking resulted in self-administration of trains of electrical pulses to one of the above stimulation sites. Reward thresholds were derived from response–number curves and defined as the pulse number necessary for half-maximal responding. Rats were tested daily at each of three current intensities that were chosen from individual number–current trade-off functions and that yielded baseline reward thresholds of approximately 10, 20 and 40 pulses/train. Testing resumed 24 h after lesioning the habenula (100  $\mu$ A anodal current, 20–25 s) and continued for 3–4 weeks. A total of 19 rats completed the experiment. In five of these, habenular lesions clearly reduced the rewarding effectiveness of the stimulation; reward thresholds increased by approximately 30–245% (0.12–0.54  $\log_{10}$  units). Generally, lesion effects were observed at low and medium current intensities, developed gradually and did not recover. Histological analysis revealed that in two rats the stimulation electrode was located in the posterior lateral hypothalamus, two in the anterior ventral tegmental area and one in the area of the dorsal raphe. These results strongly suggest that the habenula constitutes an important component of the neural circuitry important for brain stimulation reward.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

**Keywords:** Self-stimulation; Reward; Habenula; Ventral tegmental area; Lateral hypothalamus; Dorsal raphe; Median raphe

## 1. Introduction

Laboratory rats will tenaciously perform an operant response in order to excite brain reward circuitry via deep brain electrodes. If placed just right within this network of reward-relevant neurons, the electrode can trigger a signal that is strong enough to direct the rat's attention away from engaging in naturally occurring behaviors such as feeding and maintain it focused on acquiring more stimulation [58]. Since its initial description [46], operant responding for brain stimulation reward (self-stimulation) has served as an animal model of goal-directed behavior. Self-stimulation is a particularly useful model for this purpose given its resistance to interference from competing processes that are normally triggered by natural rewards such as satiety and refractoriness, thus affording the experimenter a unique opportunity to isolate and study the reward signal per se.

Electrical stimulation of a variety of different brain areas supports self-stimulation, extending from sites in the olfactory bulb [50] to others in the medulla oblongata [15]. Throughout this extent, those sites that support self-stimulation along the longitudinal axis extending from the anterior medial forebrain bundle (MFB) to the posterior mesencephalon (PM) have received the most research attention, mainly due to the vigor and stability of the operant response associated with stimulation of this pathway.

Although several sites situated outside the MFB and PM also support self-stimulation, in some cases, very little is known about the functional relation of these to the MFB-PM pathway. The habenula is one such site. Located centrally along the dorsal diencephalic conduction system, the habenula serves as an important relay between the forebrain and several mid- and hindbrain sites [1,34,65,69]. Sites within the habenula support self-stimulation [66–68], as do most of its afferent and efferent target sites: septum [46,51,57], ventral pallidum [47,48], nucleus accumbens [52,53], diagonal band of Broca [20,21], lateral preoptic area [14], lateral hypothalamus (LH) [30,45], ventral tegmental area (VTA) [17,19], central gray [37,54,59], dorsal

\* Corresponding author. Tel.: (information retired / information withdrawn); fax: (information retired / information withdrawn).  
E-mail address: (information retired / information withdrawn) (S.M. Boye).

and median raphe nuclei (DR and MR, respectively) [39,55,64]. Similarly, the stria medullaris and fasciculus retroflexus, respectively the principal afferent input and efferent output of the habenula, also support self-stimulation [9,66,67]. Rewarding stimulation of several MFB sites increases metabolic activity in the habenula as visualized with Fos-like immunoreactivity [2–4,31,32], cytochrome oxidase [8] and glycogen phosphorylase [35,36]. Moreover, lesion studies have suggested, on the basis of changes in operant response rates, the presence of a reward-relevant functional relation between the habenula and known circuitry for brain stimulation reward [10,11,66]. To explore this relation further, we combined electrolytic lesions with curve-shift scaling of the operant response to test the contribution of the habenula to self-stimulation of sites in the MFB and PM. We hypothesized that if the habenula constitutes part of the neural circuitry for brain stimulation reward, then lesioning this structure should attenuate the rewarding effectiveness of the stimulation.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Subjects

Thirty male Long Evans rats served as experimental subjects. Rats were kept in a temperature- and humidity-controlled animal colony lit from 6.30 a.m. to 6.30 p.m. and had free access to food and water. All testing was carried out between 9 a.m. and 3 p.m. and in accordance with the guidelines established by the Canadian Council on Animal Care.

### 2.2. Surgery

Rats (300–400 g) were first treated with atropine methyl nitrate (0.05 mg/kg, i.p.) in order to reduce mucous secretion and then anesthetized with sodium pentobarbital (Somnotol, 65 mg/kg, i.p.) 20 min later. During stereotaxic surgery, rats were implanted with a monopolar stimulation electrode aimed at the LH (AP: –2.8, ML: +1.8, DV: –8.2), VTA (AP: –5.2 to –5.6, ML: +0.5 to +0.8, DV: –7.8 to –8.2), DR (AP: –7.8, ML: 0, DV: –7.0) or MR (AP: –7.8, ML: 0, DV: –8.6), and an ipsilateral lesioning electrode aimed at the lateral habenula (AP: –3.6 to –3.8, ML: +0.6, DV: –5.3). All (flat skull) coordinates are expressed in reference to bregma [49]. Electrodes were constructed from 0.25 mm stainless steel wire insulated with Epoxylite except for the dome-shaped tip. The only difference between stimulation and lesioning electrodes was their purpose. An uninsulated stainless steel wire connected at one end to a male amphenol pin and wrapped around four to five miniature screws that were threaded into the cranium served as the anode during stimulation and as the cathode during lesioning. Acrylic dental cement was used to chronically secure the electrode assembly to the skull. Rats were allowed 1-week post-operative recovery.

### 2.3. Apparatus

Operant chambers were constructed from plywood (back and side walls) and Plexiglas (front wall). Each chamber was equipped with a nose poke device (3 cm opening) fitted with an infrared photobeam located at a depth of 1 cm. In order to minimize disturbances due to noise, chambers were encased in wooden boxes insulated with Styrofoam; a Plexiglas window in the front of each box allowed constant viewing of the rat. Current intensity was monitored on an oscilloscope by reading the voltage drop across a 1 k $\Omega$  resistor in series with the electrode.

### 2.4. Training

Rats were trained by rewarding successive approximations to the nose poke response. Ultimately, each nose poke triggered a constant-current pulse generator to deliver a single 400 ms train of cathodal rectangular pulses of 0.1 ms in

duration. Stimulation trains were delivered on a FI-1 s schedule. The operant response was usually acquired within the first hour. Rats were then allowed to self-stimulate freely for 2–3 days at constant stimulation parameters adjusted to maintain consistent responding without visible secondary effects. Following this initial phase, response–number curves were generated by holding the stimulation current intensity constant and measuring response rate at each of a series of pulse numbers. Each pulse number was tested during a single 45 s trial that was preceded by non-contingent delivery of five trains of priming stimulation; these trains comprised stimulation parameters identical to those available during the ensuing trial. At the end of the 45 s trial, the pulse number was reduced by approximately 0.1 log<sub>10</sub> units and a 25 s inter-trial interval was imposed. Rats then received five priming trains with the new pulse number and another 45 s trial began. Testing continued in this manner until responding extinguished (two consecutive pulse numbers generating  $\leq 5$  responses). Following extinction, the pulse number was reset to the highest value and a new response–number curve was generated. A regression line was then fit to the rising portion of each response–number curve and from these, the pulse number necessary for half-maximal responding (reward threshold) was derived and used as our index of the rewarding effectiveness of the stimulation.

### 2.5. Choice of current intensities

We tested the effectiveness of our lesions at three different current intensities (see [43]) that were determined in the following way. For each rat, response–number curves were generated at each of several current intensities, ranging from 100 to 900  $\mu$ A. From the resulting trade-off function (pulse number as a function of current), we chose three current intensities (low, medium, high) that produced thresholds of approximately 10, 20 and 40 pulses/train. In cases where it was not possible to attain a threshold of 10 or 40, we chose current intensities that resulted in the lowest or highest possible threshold. Note that the descriptors ‘low’, ‘medium’ and ‘high’ refer to the relative values of current intensities used on each rat, and that a ‘low’ current intensity in one rat may have been a ‘medium’ intensity in another.

### 2.6. Testing

Once three current intensities were determined for each rat, they were tested daily until reward thresholds at each intensity varied by less than 0.1 log<sub>10</sub> units within test sessions and across several days. Once reward thresholds were deemed stable, rats were tested for an additional 3 days in order to obtain three baseline estimates of reward thresholds at each current intensity. Each day, seven reward thresholds were determined: two at each current intensity plus one at the start of the test session that was not included in data analyses. Twenty-four hours after the third baseline day, rats were lesioned. Since rats were not anesthetized during lesioning, testing resumed 24 h later. Test sessions after the lesion were identical to those during baseline conditions.

### 2.7. Lesion

Rats were placed in a circular bucket and allowed to move freely during lesioning. Unilateral habenular lesions were produced by passing direct anodal current (100  $\mu$ A, 20–25 s) via the habenula electrode while using the indifferent electrode as the cathode. These parameters were not sufficient to induce aversive reactions in any of the rats.

### 2.8. Histology

At the end of the experiment, rats were anesthetized with sodium pentobarbital (Somnotol, 65 mg/kg, i.p.) and stimulation sites were marked by passing direct anodal current (100  $\mu$ A, 15 s) through the stimulation electrode. Rats were then transcardially perfused with 0.9% saline followed by 10% formalin containing 3% potassium ferrocyanide, 3% potassium ferricyanide and 0.5% trichloroacetic acid. The reaction of the perfusion solution with the iron deposits caused by the anodal lesion (stainless steel electrode) produced a visible blue marking of the stimulation site. Brains were kept in 30% sucrose for 3 days, sliced into 40  $\mu$ m coronal sections and mounted onto gelatin-coated slides. Brain slices

were then stained for Nissl substance using thionin and examined under light microscopic conditions.

### 3. Results

In total, 30 rats were stereotactically implanted with stimulation and lesioning electrodes. Of these, 19 rats completed the experiment. Of these 19, four had their stimulation electrode in the LH, four in the VTA, six in the DR and five in the MR. The remaining 11 rats were excluded because the stimulation site did not support reliable responding at three different current intensities.

Number–current trade-off functions obtained from individual rats in each of the four stimulation groups are shown in Fig. 1. These trade-off functions describe different combinations of pulse numbers and current intensities that sustain a constant level of rewarding effectiveness (reward threshold). According to the counter model of spatiotemporal integration, rewarding effectiveness is a function of the total number of reward-relevant action potentials triggered by a train of fixed duration, regardless of their distribution across time or space [25]. As shown in Fig. 1, in order to maintain rewarding effectiveness constant, progressive increments in current intensity were offset by reductions in pulse number.

The effects of habenular lesions are shown in Figs. 2–5. The graphs on the left describe mean changes in reward thresholds obtained at each current intensity as a function of time after the lesion. Electrode locations and lesion reconstructions are shown on the right. Note that the size and shape of the lesions were determined approximately 1 month after lesioning; these may thus partially reflect recovery of tissue damage during this interval. Lateral hypothalamic stimulation sites were widely dispersed rostro-caudally, between 2.3 and 4.52 mm posterior to bregma (Fig. 2). Rats 380 and 382 showed the largest lesion effects. In rat 380, the stimulation electrode was located in the posterior LH. The lesion encompassed the posterior half of the habenula and extended from 3.8 to 4.3 mm posterior to bregma. Two weeks after lesioning, thresholds increased by approximately 78 and 68% (0.25 and 0.22 log<sub>10</sub> units) at low and medium current intensities, respectively, and remained elevated until the end of week 4. Thresholds were not altered at the highest current intensity. In rat 382, the lesion also encroached the posterior part of the habenula, and extended from 4.16 to 4.52 mm posterior to bregma. In this rat, reward thresholds rose mid-way through the second week, and remained elevated by approximately 30–35% (~0.13 log<sub>10</sub>) at low and medium current intensities. At the high current intensity, threshold increases were smaller (22% [0.09 log<sub>10</sub>] during week 4). The remaining two subjects with LH stimulation sites had very similar habenular lesions; these extended 3.3–3.8 mm posterior to bregma and impinged mainly on the lateral habenula and the rostral aspect of the fasciculus retrollexus. Subject 396 showed a small but long-lasting threshold elevation of approximately 20% (0.09 log<sub>10</sub>) only at the medium current intensity, whereas reward thresholds in subject 406 did not change systematically across the 4 weeks.

The effect of habenular lesions on VTA self-stimulation is shown in Fig. 3. The four rats included in this group had

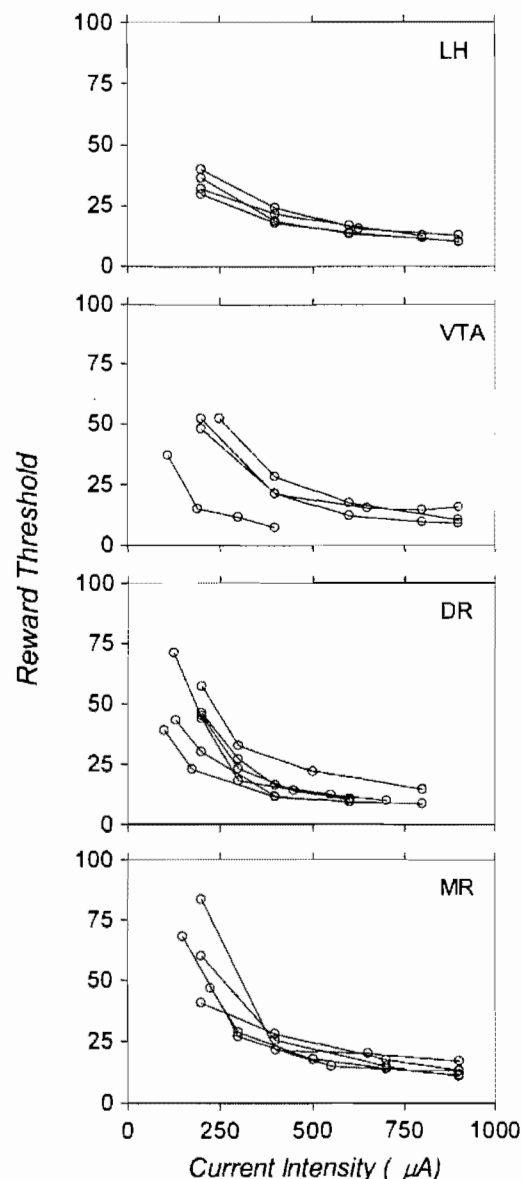


Fig. 1. Number–current trade-off functions. The different panels show changes in reward threshold (number of pulses necessary for half-maximal responding) as a function of current intensity ( $\mu\text{A}$ ), at each of the four stimulation sites studied. Each trade-off function describes data obtained from an individual rat.

very similar VTA stimulation sites, located between 4.8 and 5.3 mm posterior to bregma. Two rats showed large lesion effects. Reward thresholds in rat 379 were stable during the first 2 weeks and then increased during weeks 3 and 4 by 60% (0.21 log<sub>10</sub>), 94% (0.28 log<sub>10</sub>) and 67% (0.23 log<sub>10</sub>) at low, medium and high current intensities, respectively. In rat 383, thresholds rose immediately (180  $\mu\text{A}$ ) or 2 days (235  $\mu\text{A}$ ) after the lesion, and remained elevated for 4 weeks. Reward thresholds were 245% (0.54 log<sub>10</sub>) and 150% (0.4 log<sub>10</sub>) higher than baseline at low and medium current intensities, respectively; they were not altered at the highest intensity. No systematic change in threshold was observed in the remaining two rats.

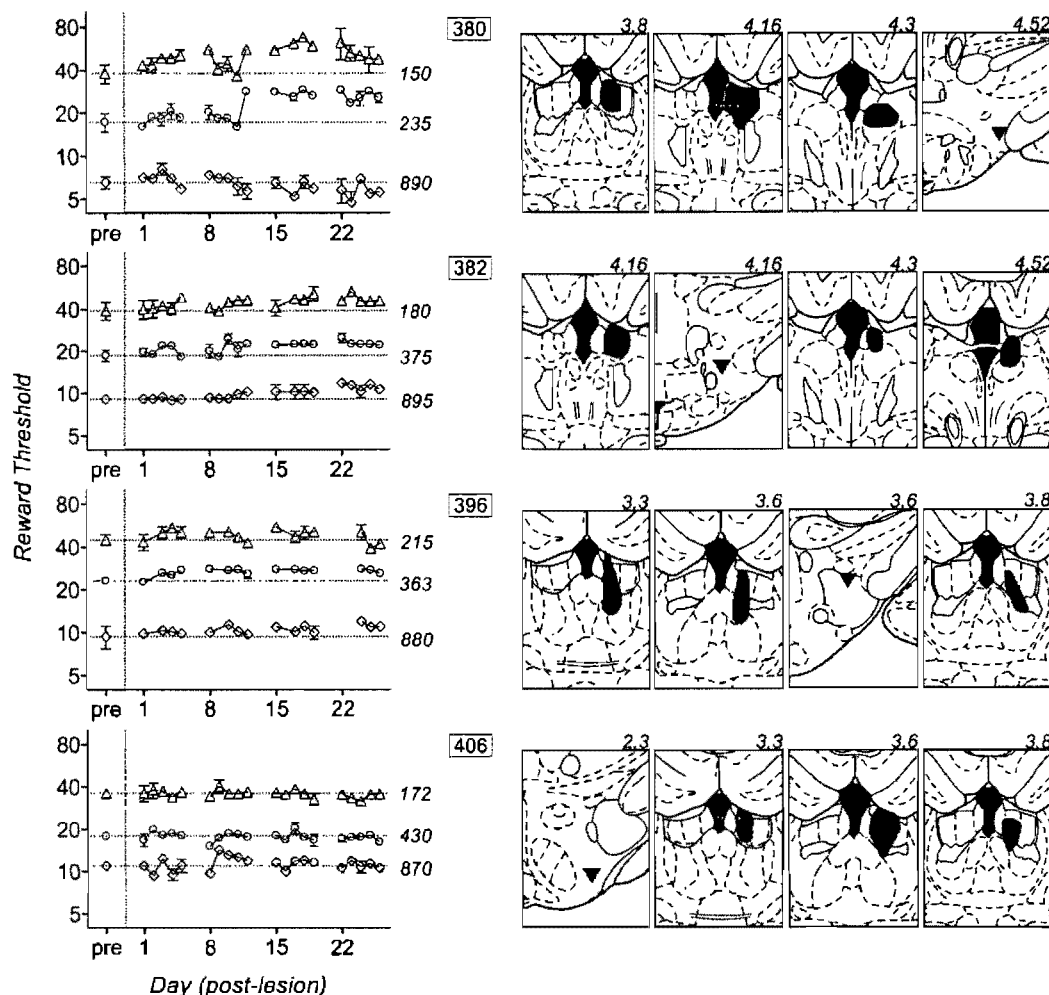


Fig. 2. Effect of habenular lesions on the rewarding effectiveness of LH stimulation. Graphs on the left describe changes in reward threshold as a function of time after the lesion, at each current intensity. Each symbol represents the mean of two threshold values ( $\pm$ S.D.). In each graph, mean pre-lesion baseline values are identified by 'pre' on the abscissa; the dotted vertical line indicates the time of the lesion. Boxed numbers identify individual rats. Panels on the right show histological reconstructions of habenular lesions and the locations of the tips of the stimulation electrodes (inverted triangles). Numbers above individual coronal plates indicate distance (mm) posterior to bregma. Drawings were adapted from the Paxinos and Watson atlas of the rat brain [49].

Two rats with stimulation electrodes in or around the DR showed lesion effects. The lesion in rat 391 was large and encompassed the entire ipsilateral habenula between 3.6 and 4.52 mm posterior to bregma, as well as part of the overlying hippocampus. The stimulation electrode in this rat was located just outside the DR, within the ventrolateral periaqueductal gray. Reward thresholds in rat 391 rose by 70% ( $0.23 \log_{10}$ ) and 45% ( $0.15 \log_{10}$ ) at low and medium current intensities, respectively, an effect that was observed immediately after the lesion and remained stable throughout the duration of the experiment. In rat 415, changes in reward threshold were smaller and less stable. The lesion in rat 415 was of smaller size than in rat 391, and was mainly restricted to the habenula and the medial part of the anterior portion of the fasciculus retroflexus. In this rat, thresholds increased mainly at the medium current intensity to approximately 50% ( $0.18 \log_{10}$ ) above baseline. Lesion effects were not observed in the remaining four rats. Similarly, none of the rats with a MR stimulation site (7.8–8.3 mm posterior

to bregma) showed evidence of any post-lesion degradation in rewarding effectiveness.

Fig. 6 shows response–number curves obtained with low, medium and high current intensities from rats showing a post-lesion increase in reward threshold. For clarity, only one weekly curve is shown at each current intensity. Generally, increases in reward threshold resulted from parallel rightward displacements of the response–number curve. In five of the six rats, these displacements were sometimes accompanied by reductions in maximal response rates, but the latter did not appear to be correlated to changes in reward threshold. In the sixth rat (rat 415), maximal response rates increased in a pulse number-dependent manner after the lesion, particularly at the medium current intensity. This non-scalar transformation of the curve was not accompanied by any detectable lateral displacement. In this rat, increased threshold values were due to a rightward shift in the pulse number at which maximal responding was attained.

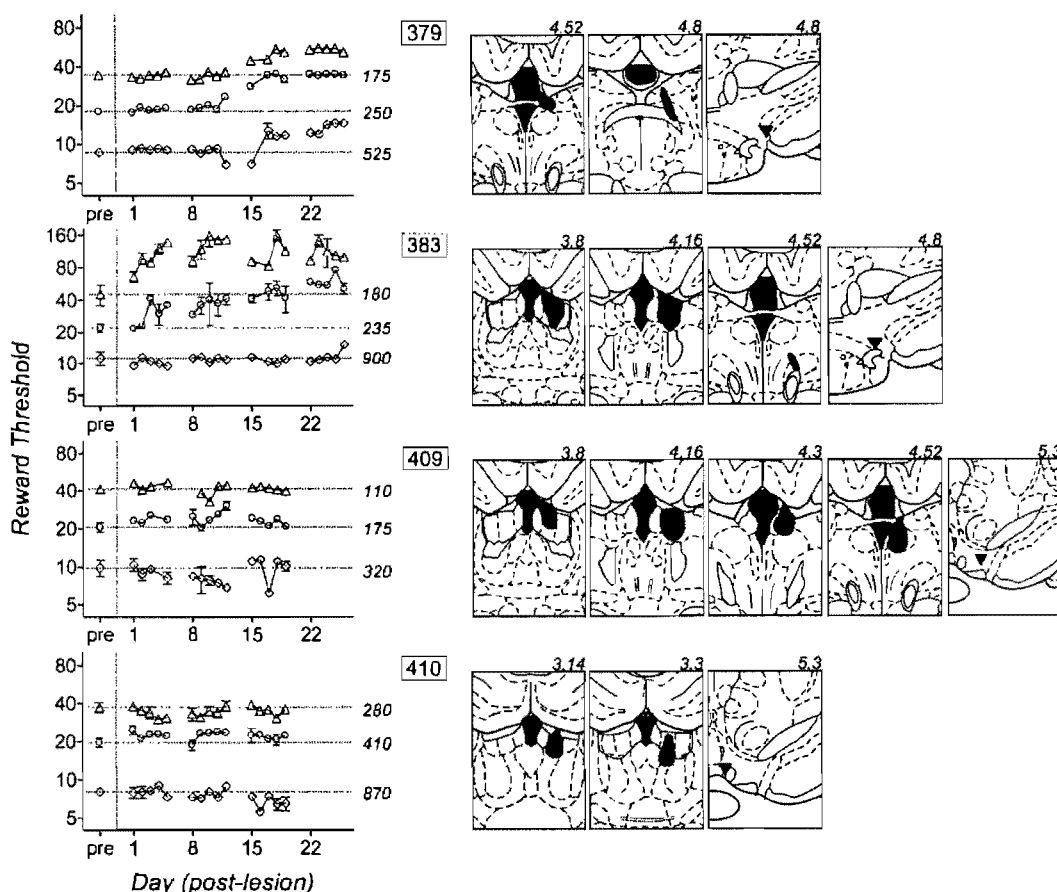


Fig. 3. Effect of habenular lesions on the rewarding effectiveness of VTA stimulation. For additional detail refer to Fig. 2.

#### 4. Discussion

We examined the functional relation between the habenula and several sites that support self-stimulation, and showed that electrolytic lesions of the habenula attenuated the rewarding effectiveness of the stimulation in 25% of our rats. Generally, habenular lesions encroached on the posterior portion of the structure, and in some cases, the most rostral aspect of the fasciculus retroflexus, its principal efferent output. Rewarding effectiveness was reduced in LH, VTA and DR stimulation sites, but not MR sites. Lesion effects developed progressively after the lesion, were long-lasting and did not recover. By far, the largest lesion effect was observed in 383, a rat with a VTA stimulation site. In this rat, reward thresholds increased by approximately 245% ( $0.54 \log_{10}$ ), an effect that persisted throughout the 4 weeks of testing. In the remaining rats, the lesion caused thresholds to increase by approximately 30–90% ( $0.12$ – $0.28 \log_{10}$ ). These findings support the hypothesis that the habenula is functionally linked to reward-relevant sites in the MFB and PM.

Lateral hypothalamic stimulation sites differed substantially with respect to their location along the rostro-caudal axis of the MFB. Despite this variability, number–current trade-off functions obtained from these sites were surprisingly similar in shape suggesting that the various electrodes stimulated different points

along a homogeneously distributed dense bundle of first-stage cells. Trade-off functions obtained from VTA, DR and MR sites, over a comparable range of current intensities, were characterized by a greater range of reward thresholds suggesting more diffuse distributions of first-stage axons around the electrode tips. Note that these trade-off functions were determined for the purpose of finding appropriate current intensities for each rat and not for comparison of spatiotemporal integrative properties across sites, which would require finer resolution and analysis.

Our lesion-induced increases in reward threshold were most commonly observed at low and medium current intensities, as previously reported [5,12,23,43]. The reason for this seemingly common finding is not readily obvious. One explanation relies on the assumption that if the lesioned fibers travel very close to the tip of the stimulation electrode, then their destruction should produce a proportionately greater reduction in rewarding effectiveness within the smaller stimulation fields created by low current intensities than in the larger fields created by high current intensities. This assumption relies entirely on optimal alignment between the tip of the stimulation electrode and the lesion. Although plausible, several psychophysical two-electrode experiments suggest that achieving accurate alignment between electrodes is not always an easy feat [6,7,13,60]. Alternatively, Gallistel and colleagues have shown that the subjective magnitude of the maximum attainable reward declines at very

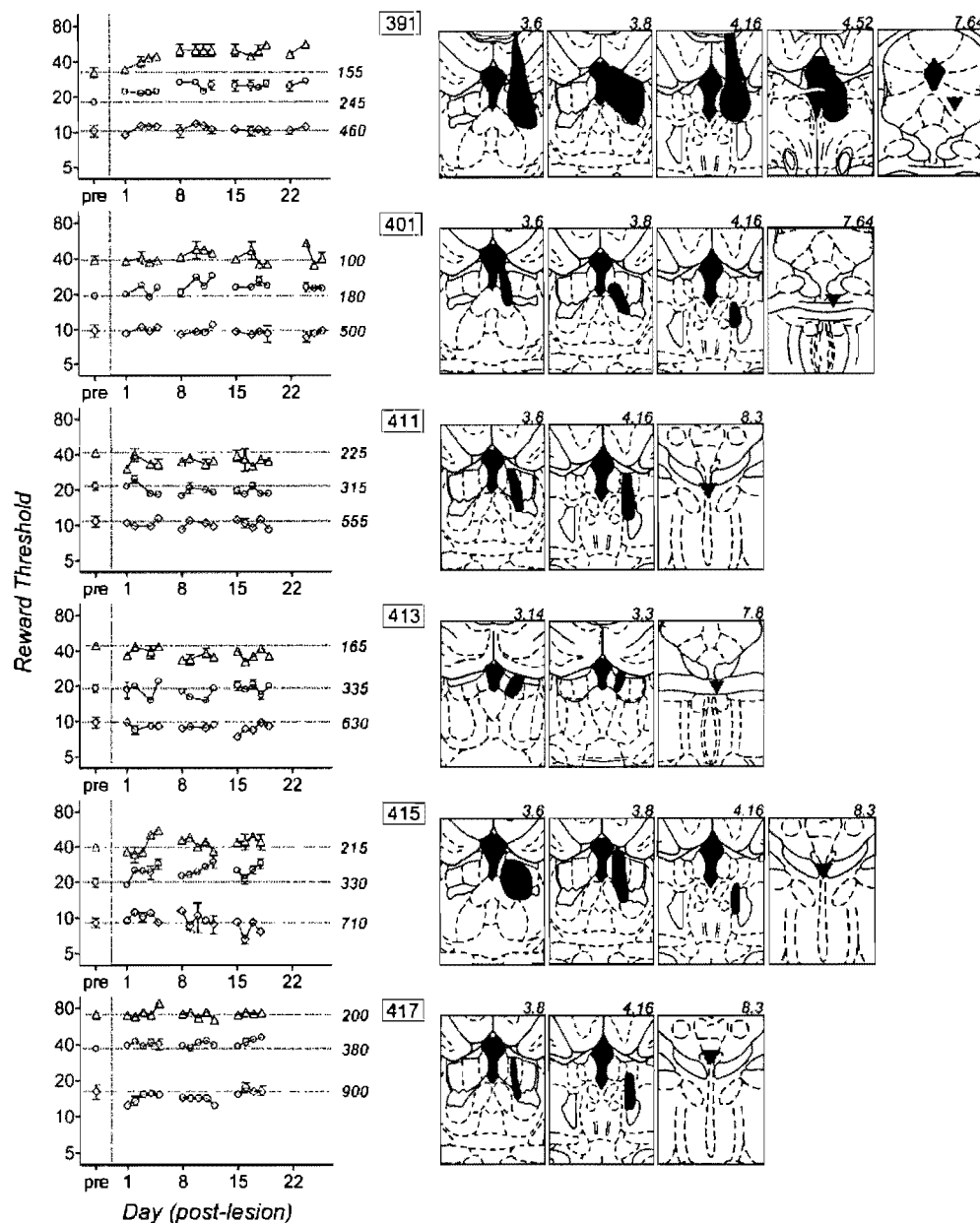


Fig. 4. Effect of habenular lesions on the rewarding effectiveness of DR stimulation. For additional detail refer to Fig. 2.

low current intensities [24,63]. In effect, the rate of growth in subjective reward as a function of pulse number is lower at low current intensities. As such, it is possible that reductions in rewarding effectiveness due to the lesion require a relatively greater increase in pulse number to restore rewarding effectiveness at lower current intensities than at higher ones. Such differential sensitivity to reward value at different current intensities may have contributed to the larger lesion effects observed at low current intensities. Counterintuitively, the findings of Gallistel and colleagues further suggest that using low current intensities may afford the experimenter a more sensitive tool for scouting lesion effects than would higher intensities.

Habenular involvement in brain stimulation reward was first proposed by Boyd and colleagues [10,11] and later demonstrated

by Sutherland and Nakajima [66], who described responding at this site as slow and evenly paced. These findings were supported and extended by Vachon and Miliaressis [67], who showed that the rewarding effectiveness of habenular stimulation was comparable to that of the MFB, despite very low response rates. In addition, most metabolic markers show increased activity in the habenula following MFB self-stimulation [35], further supporting a role for this structure in brain stimulation reward. However, autoradiographic studies using [ $^{14}\text{C}$ ]-2-deoxyglucose revealed bilateral suppression of metabolic activity in the habenula following rewarding stimulation of the MFB [22,26]. The lack of concordance between different metabolic markers is not understood, but may reflect differences in tracer accumulation in pre- versus post-synaptic tissue [22,35]. In the original



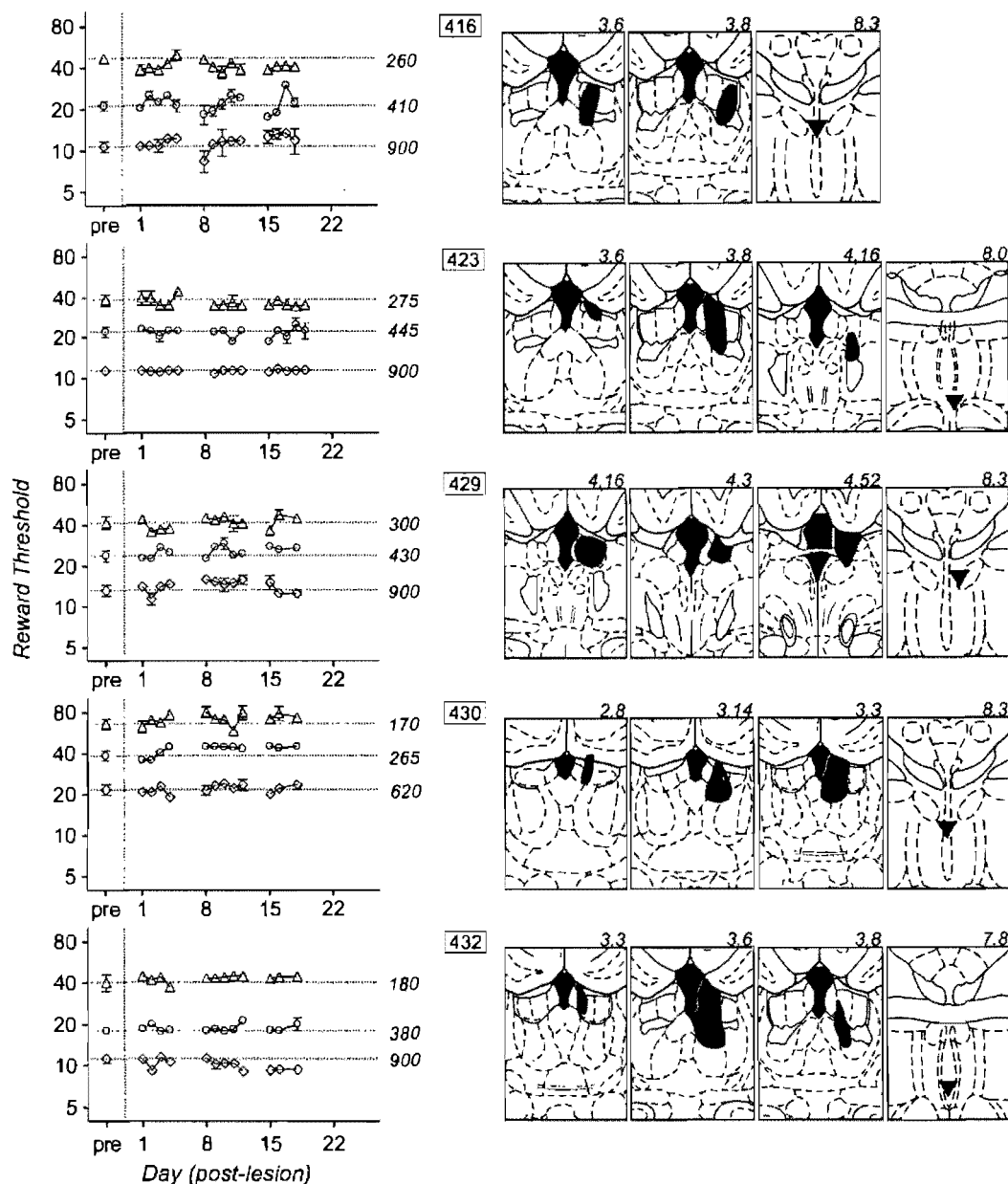


Fig. 5. Effect of habenular lesions on the rewarding effectiveness of MR stimulation. For additional detail refer to Fig. 2.

experiment of Sutherland and Nakajima [66], electrolytic lesions of the habenula increased response rates for MFB stimulation and lesions of the MFB increased responding for habenular stimulation. Interestingly, lesions of the MR reduced habenular self-stimulation, although lesions of the habenula did not alter MR self-stimulation. The authors concluded that habenula reward depended on stimulation of processes in the posterior mesencephalon, independent of MFB involvement. In fact, the mutual disinhibition of responding following lesions of the habenula and MFB alike, suggested functional antagonism between these two conduction systems. Our findings do not support this hypothesis. Despite the fact that we too did not observe changes in MR reward following habenula lesions, we in fact show that these lesions reduce rewarding effectiveness not just in MFB

sites, but also near the DR. These findings underscore the caution required when interpreting results obtained with response rate measures. Indeed, changes in response rate following a lesion, or any other manipulation, may be due to changes in performance capacity, in rewarding effectiveness or both [18,29,40].

In general, the size and location of our lesions were similar across most rats and with the exception of the LH, there was little spatial variability among VTA, DR or MR stimulation sites. Despite this, we saw consistent lesion effects in only one quarter of our animals, a proportion comparable to that of previous lesion experiments. As is commonly observed, similar lesions led to different behavioral effects. For example, rats 383 and 409 had very similar habenular lesions and their VTA stimulation sites were separated by only 0.5 mm. However,

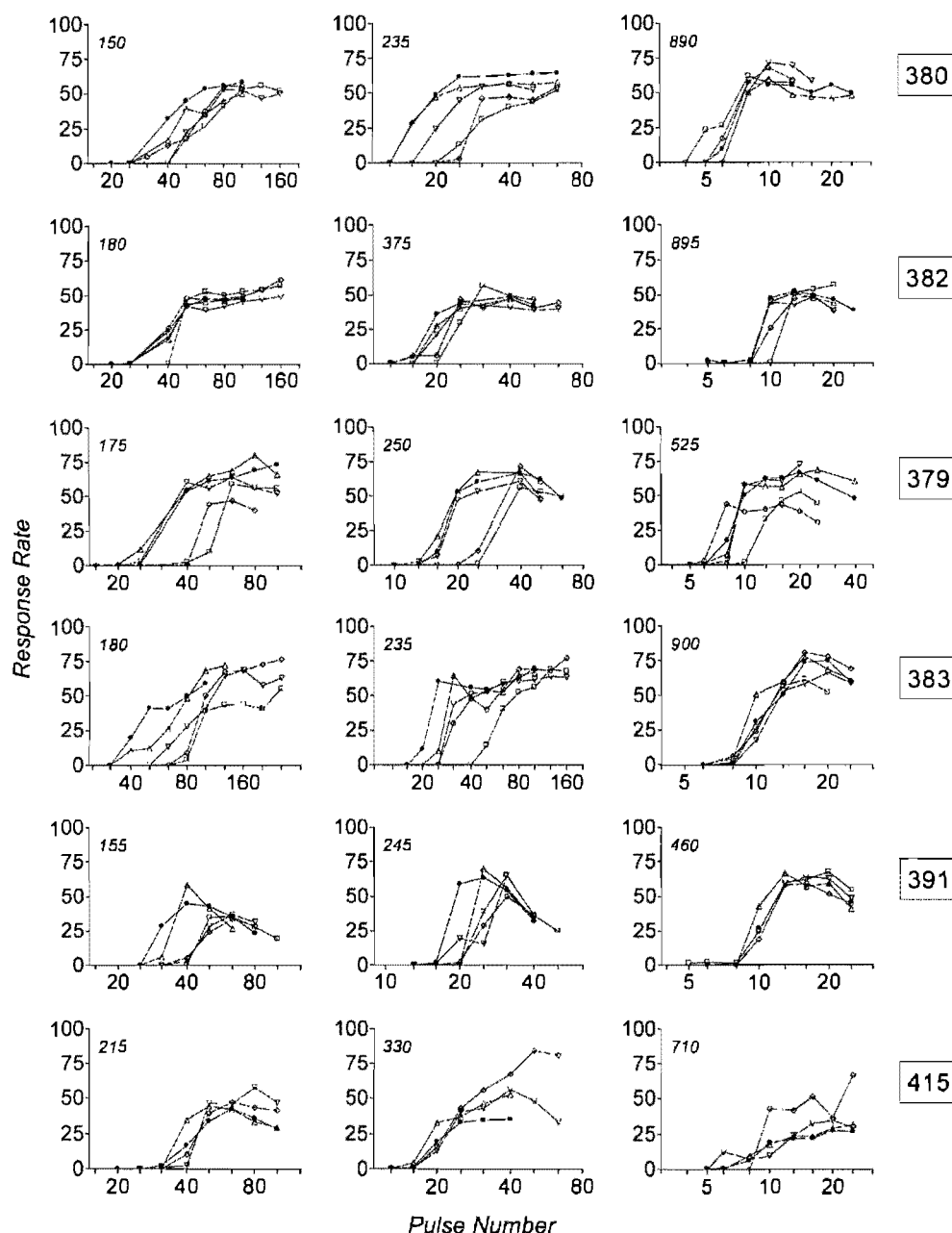


Fig. 6. Individual response–number curves obtained from rats showing a lesion effect. Each row shows data obtained with low, medium and high current intensities from each rat. Boxed numbers on the right of each row identify individual animals. Each graph describes response rates as a function of pulse number at baseline (filled circles) and at different times after the lesion (1 day: upright triangles; 8 days: inverted triangles; 15 days: diamonds; 22 days: squares). Italic numbers in the upper-left corner of each graph indicate current intensity ( $\mu\text{A}$ ).

whereas rat 383 showed a very large and long-lasting increase in reward threshold, rat 409 did not show any effect. Note that the number–current trade-off function obtained from rat 409 was clearly displaced to the left of the three other functions obtained from rats with VTA stimulation electrodes, including rat 383, suggesting stimulation of a relatively higher density of reward-relevant axons coursing very close to the tip of the stimulation electrode in rat 409. Intuitively, this might suggest a greater likelihood of observing a lesion effect in rat 409, which was not the case.

Experiments employing psychophysical and electrophysiological techniques suggest that at least a subpopulation of first-stage cells travel longitudinally along the MFB and have their cell bodies located in forebrain nuclei [7,56,60,61]. However, lesion experiments aimed at deciphering the MFB trajectory of the axons of these first-stage cells have at times provided ambiguous results. First, as described above, there is often discordance between the size or location of a lesion and the magnitude of the resultant decrease in rewarding effectiveness [5,42,43,62,70]. Second, at least with MFB stimulation sites, it

has generally been found that lesions or knife-cuts placed anterior to the electrode attenuate the rewarding effectiveness of the stimulation substantially less than lesions placed an equal distance posterior to it [23,70]. Third, and most baffling, are the findings of an experiment that combined tract tracing with lesions and behavior. In effect, Simmons et al. [62] showed that in some animals electrolytic lesions that severed most of the rostral MFB did not reliably reduce rewarding effectiveness nor structurally disconnect the VTA from forebrain sites such as the infralimbic area, the nucleus of the diagonal band of Broca, the septal complex and the medial and lateral preoptic areas, all sites known to project caudally to the VTA via the MFB. We propose that the dorsal diencephalic conduction system, composed of the stria medullaris, the habenula and the fasciculus retroflexus, comprises a viable route for first-stage cells coursing between forebrain and midbrain sites.

The dorsal diencephalic conduction system is thought to functionally parallel the MFB in linking the limbic forebrain to the midbrain mesencephalon [34,65]. The hypothesis that conduction along this pathway can contribute to previous inconsistent findings obtained in lesion studies has anatomical validity on two fronts. First, some cells arising in the nucleus of the diagonal band of Broca and septal complex, areas that might give rise to cells important for brain stimulation reward, project caudally via the stria medullaris and bypass the habenula entirely, before terminating in the midbrain tegmentum in both the rat [27,28,38] and other species [16,33,44]. These long uninterrupted axons may have served as a substrate for continued brain stimulation reward despite large MFB lesions as well as for retrograde transport of tracer in the Simmons et al. experiment [62]. Second, some axons projecting caudally along the stria medullaris are in fact collaterals of parallel projections traveling along the more ventral MFB [41]. Enhanced activity along dorsal collaterals spared from MFB lesions may compensate for lesion-induced degeneration of the MFB. Indeed, the overlap in refractory period estimates obtained from first-stage cells in and around the habenula and from those in the MFB support the notion of a common population of cells [68].

In summary, we show that unilateral electrolytic lesions of the habenula can produce large and long-lasting attenuations in the rewarding effectiveness of the stimulation. Although it has been shown that direct stimulation of the habenula can support intracranial self-stimulation [66,67], to date, its functional relation to other reward-relevant sites had not been systematically studied with psychophysical methods. The present findings suggest that destruction of the habenula interferes with the rewarding effectiveness of the stimulation at distal sites that support self-stimulation and as such, may constitute an important part of the neural substrate for brain stimulation reward.

## Acknowledgements

The authors are grateful to Dr P.-P. Rompré and to Dr R. Élie for their very kind generosity. This work was supported by a Discovery Grant from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (SMB).

## References

- [1] Andres KH, von Düring M, Veh RW. Subnuclear organization of the rat habenular complexes. *J Comp Neurol* 1999;407:130–50.
- [2] Arvanitogiannis A, Flores C, Pfau JG, Shizgal P. Increased ipsilateral expression of Fos following lateral hypothalamic self-stimulation. *Brain Res* 1996;720:148–54.
- [3] Arvanitogiannis A, Flores C, Shizgal P. Fos-like immunoreactivity in the caudal diencephalon and brainstem following lateral hypothalamic self-stimulation. *Behav Brain Res* 1997;88:275–9.
- [4] Arvanitogiannis A, Tzschentke TM, Riscaldino L, Wise RA, Shizgal P. Fos expression following self-stimulation of the medial prefrontal cortex. *Behav Brain Res* 2000;107:123–32.
- [5] Arvanitogiannis A, Waraczynski M, Shizgal P. Effects of excitotoxic lesions of the basal forebrain on MFB self-stimulation. *Physiol Behav* 1996;59:795–806.
- [6] Bielajew C, Jordan C, Ferme-Enright J, Shizgal P. Refractory periods and anatomical linkage of the substrates for lateral hypothalamic and periaqueductal gray self-stimulation. *Physiol Behav* 1981;27:95–104.
- [7] Bielajew C, Shizgal P. Evidence implicating descending fibers in self-stimulation of the medial forebrain bundle. *J Neurosci* 1986;6:919–29.
- [8] Bielajew CH. Distribution of cytochrome oxidase in response to rewarding brain stimulation: effect of different pulse durations. *Brain Res Bull* 1991;26:379–84.
- [9] Blander A, Wise RA. Anatomical mapping of brain stimulation reward sites in the anterior hypothalamic area: special attention to the stria medullaris. *Brain Res* 1989;483:12–6.
- [10] Boyd ES, Celso MB. Effect of some brain lesions on septal intracranial self-stimulation in the rat. *Am J Physiol* 1970;219:734–41.
- [11] Boyd ES, Gardner LC. Effect of some brain lesions on intracranial self-stimulation in the rat. *Am J Physiol* 1967;213:1044–52.
- [12] Boye SM. Mesencephalic substrate of reward: lesion effects. *Behav Brain Res* 2005;156:31–43.
- [13] Boye SM, Rompré P-P. Mesencephalic substrate of reward: axonal connections. *J Neurosci* 1996;16:3511–20.
- [14] Bushnik T, Bielajew C, Konkole AT. The substrate for brain-stimulation reward in the lateral preoptic area. I. Anatomical mapping of its boundaries. *Brain Res* 2000;881:103–11.
- [15] Carter DA, Phillips AG. Intracranial self-stimulation at sites in the dorsal medulla oblongata. *Brain Res* 1975;94:155–60.
- [16] Cragg BG. The connections of the habenula in the rabbit. *Exp Neurol* 1961;3:388–409.
- [17] Crow TJ. A map of the rat mesencephalon for electrical self-stimulation. *Brain Res* 1972;36:265–73.
- [18] Edmonds DE, Gallistel CR. Parametric analysis of brain stimulation reward in the rat. III. Effect of performance variables on the reward summation function. *J Comp Physiol Psychol* 1974;87:876–83.
- [19] Forgie ML, Shizgal P. Mapping the substrate for brain stimulation reward by means of current-number trade-off functions. *Behav Neurosci* 1993;107:506–24.
- [20] Fouriez G, Walker S, Rick J, Bielajew C. Refractoriness of neurons mediating intracranial self-stimulation in the anterior basal forebrain. *Behav Brain Res* 1987;24:73–80.
- [21] Gallistel CR. Motivating effects in self-stimulation. *J Comp Physiol Psychol* 1966;62:95–101.
- [22] Gallistel CR, Gomita Y, Yadin E, Campbell KA. Forebrain origins and terminations of the medial forebrain bundle metabolically activated by rewarding stimulation or by reward-blocking doses of pimozone. *J Neurosci* 1985;5:1246–61.
- [23] Gallistel CR, Leon M, Lim BT, Sim JC, Waraczynski M. Destruction of the medial forebrain bundle caudal to the site of stimulation reduces rewarding efficacy but destruction rostrally does not. *Behav Neurosci* 1996;110:766–90.
- [24] Gallistel CR, Leon M, Waraczynski M, Hanau MS. Effect of current on the maximum possible reward. *Behav Neurosci* 1991;105:901–12.
- [25] Gallistel CR, Shizgal P, Yeomans JS. A portrait of the substrate for self-stimulation. *Psychol Rev* 1981;88:228–73.

- [26] Gomita Y, Gallistel CR. Effects of reinforcement-blocking doses of pimoide on neural systems driven by rewarding stimulation of the MFB: a 14C-2-deoxyglucose analysis. *Pharmacol Biochem Behav* 1982;17:841-5.
- [27] Gottesfeld Z, Jacobowitz DM. Cholinergic projection of the diagonal band to the interpeduncular nucleus of the rat brain. *Brain Res* 1978;156:329-32.
- [28] Herkenham M, Nauta WJ. Afferent connections of the habenular nuclei in the rat. A horseradish peroxidase study, with a note on the fiber-of-passage problem. *J Comp Neurol* 1977;173:123-46.
- [29] Hodos W, Valenstein E. An evaluation of response rate as a measure of rewarding intracranial stimulation. *J Comp Physiol Psychol* 1962;55:80-4.
- [30] Huang YH, Routtenberg A. Lateral hypothalamic self-stimulation pathways in *Rattus norvegicus*. *Physiol Behav* 1971;7:419-32.
- [31] Hunt GE, McGregor IS. Rewarding brain stimulation induces only sparse Fos-like immunoreactivity in dopaminergic neurons. *Neuroscience* 1998;83:501-15.
- [32] Hunt GE, McGregor IS. Contrasting effects of dopamine antagonists and frequency reduction on Fos expression induced by lateral hypothalamic stimulation. *Behav Brain Res* 2002;132:187-201.
- [33] Iwahori N. A Golgi study on the habenular nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 1977;72:319-44.
- [34] Klemm WR. Habenular and interpeduncular nuclei: shared components in multiple-function networks. *Med Sci Monit* 2004;10:RA261-73.
- [35] Konklic AT, Bielajew C. Tracing the neuroanatomical profiles of reward pathways with markers of neuronal activation. *Rev Neurosci* 2004;15:383-414.
- [36] Konklic AT, Wilson P, Bielajew C. Histochemical mapping of the substrate for brain-stimulation reward with glycogen phosphorylase. *J Neurosci Methods* 1999;93:111-9.
- [37] Liebman JM, Mayer DJ, Liebeskind JC. Self-stimulation loci in the mid-brain central gray matter of the rat. *Behav Biol* 1973;9:299-306.
- [38] McGeer EG, Scherer-Singler U, Singh EA. Confirmatory data on habenular projections. *Brain Res* 1979;168:375-6.
- [39] Miliaressis E, Bouchard A, Jacobowitz DM. Strong positive reward in median raphe: specific inhibition by para-chlorophenylalanine. *Brain Res* 1975;98:194-201.
- [40] Miliaressis E, Rompré P-P, Laviolette P, Philippe L, Coulombe D. The curve-shift paradigm in self-stimulation. *Physiol Behav* 1986;37:85-91.
- [41] Millhouse OE. A Golgi study of the descending medial forebrain bundle. *Brain Res* 1969;15:341-63.
- [42] Murray B, Shizgal P. Anterolateral lesions of the medial forebrain bundle increase the frequency threshold for self-stimulation of the lateral hypothalamus and ventral tegmental area in the rat. *Psychobiology* 1991;19:135-46.
- [43] Murray B, Shizgal P. Attenuation of medial forebrain bundle reward by anterior lateral hypothalamic lesions. *Behav Brain Res* 1996;75:33-47.
- [44] Nauta WJ. Hippocampal projections and related neural pathways to the midbrain in the cat. *Brain* 1958;81:319-40.
- [45] Olds J. Hypothalamic substrates of reward. *Physiol Rev* 1962;42:554-604.
- [46] Olds J, Milner P. Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *J Comp Physiol Psychol* 1954;47:419-27.
- [47] Panagis G, Miliaressis E, Anagnostakis Y, Spyrali C. Ventral pallidum self-stimulation: a moveable electrode mapping study. *Behav Brain Res* 1995;68:165-72.
- [48] Panagis G, Nomikos GG, Miliaressis E, Chergui K, Kastellakis A, Svensson TH, et al. Ventral pallidum self-stimulation induces stimulus dependent increase in c-fos expression in reward-related brain regions. *Neuroscience* 1997;77:175-86.
- [49] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 3rd ed. San Diego, CA: Academic Press; 1997.
- [50] Phillips AG, Mogenson GJ. Self-stimulation of the olfactory bulb. *Physiol Behav* 1969;4:195-7.
- [51] Prado-Alcala R, Streather A, Wise RA. Brain stimulation reward and dopamine terminal fields. II. Septal and cortical projections. *Brain Res* 1984;301:209-19.
- [52] Prado-Alcala R, Wise RA. Brain stimulation reward and dopamine terminal fields. I. Caudate-putamen, nucleus accumbens and amygdala. *Brain Res* 1984;297:265-73.
- [53] Rolls ET. Contrasting effects of hypothalamic and nucleus accumbens septi self-stimulation on brain stem single unit activity and cortical arousal. *Brain Res* 1971;31:275-85.
- [54] Rompré P-P, Boye S. Localization of reward-relevant neurons in the pontine tegmentum: a moveable electrode mapping study. *Brain Res* 1989;496:295-302.
- [55] Rompré P-P, Miliaressis E. Pontine and mesencephalic substrates of self-stimulation. *Brain Res* 1985;359:246-59.
- [56] Rompré P-P, Shizgal P. Electrophysiological characteristics of neurons in forebrain regions implicated in self-stimulation of the medial forebrain bundle in the rat. *Brain Res* 1986;364:338-49.
- [57] Routtenberg A. Forebrain pathways of reward in *Rattus norvegicus*. *J Comp Physiol Psychol* 1971;75:269-76.
- [58] Routtenberg A, Lindy J. Effects of the availability of rewarding septal and hypothalamic stimulation on bar pressing for food under conditions of deprivation. *J Comp Physiol Psychol* 1965;60:158-61.
- [59] Schmitt P, Eclancher F, Karli P. Topographic analysis of areas of negative and positive reinforcement in the central grey matter of the rat (author's transl). *Physiol Behav* 1974;12:271-9.
- [60] Shizgal P, Bielajew C, Corbett D, Skelton R, Yeomans J. Behavioral methods for inferring anatomical linkage between rewarding brain stimulation sites. *J Comp Physiol Psychol* 1980;94:227-37.
- [61] Shizgal P, Schindler D, Rompré P-P. Forebrain neurons driven by rewarding stimulation of the medial forebrain bundle in the rat: comparison of psychophysical and electrophysiological estimates of refractory periods. *Brain Res* 1989;499:234-48.
- [62] Simmons JM, Ackermann RF, Gallistel CR. Medial forebrain bundle lesions fail to structurally and functionally disconnect the ventral tegmental area from many ipsilateral forebrain nuclei: implications for the neural substrate of brain stimulation reward. *J Neurosci* 1998;18:8515-33.
- [63] Simmons JM, Gallistel CR. Saturation of subjective reward magnitude as a function of current and pulse frequency. *Behav Neurosci* 1994;108:151-60.
- [64] Simon H, Le Moal M, Cardo B. Intracranial self-stimulation from the dorsal raphe nucleus of the rat: effects of the injection of para-chlorophenylalanine and of alpha-methylparatyrosine. *Behav Biol* 1976;16:353-64.
- [65] Sutherland RJ. The dorsal diencephalic conduction system: a review of the anatomy and functions of the habenular complex. *Neurosci Biobehav Rev* 1982;6:1-13.
- [66] Sutherland RJ, Nakajima S. Self-stimulation of the habenular complex in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 1981;95:781-91.
- [67] Vachon MP, Miliaressis E. Dorsal diencephalic self-stimulation: a moveable electrode mapping study. *Behav Neurosci* 1992;106:981-91.
- [68] Vachon MP, Miliaressis E. Post-stimulation excitability of diencephalic self-stimulation neurons. *Behav Brain Res* 1994;60:177-82.
- [69] Wang RY, Aghajanian GK. Physiological evidence for habenula as major link between forebrain and midbrain raphe. *Science* 1977;197:89-91.
- [70] Waraczynski MA. Basal forebrain knife cuts and medial forebrain bundle self-stimulation. *Brain Res* 1988;438:8-22.

## **4. Résultats**

Au cours de cette expérience, trente rats ont subi une chirurgie stéréotaxique. De ce nombre, dix-neufs ont complété l'étude. Parmi eux, quatre animaux avaient une électrode de stimulation dans le VTA, quatre dans l'HL, six dans le DR et finalement cinq dans le RM. Pour chacun des animaux présents dans l'étude, une courbe nombre-courant fut obtenue. Cette courbe, met en relation la combinaison du nombre de pulsions en fonction de l'intensité du courant nécessaire pour maintenir l'efficacité renforçante constante chez l'animal (seuil de récompense). Nos résultats démontrent qu'une légère augmentation de l'intensité du courant est accompagnée par une réduction du nombre de pulsions. Ce qui est en accord avec le modèle de compteur spatiotemporel discuté dans l'introduction.

Suite à la sélection des trois courants nécessaires pour la réalisation de l'étude, les animaux ont subi une lésion ipsilatérale de l'Hb. L'analyse des résultats démontre que la lésion électrolytique de l'Hb a produit une augmentation du seuil de stimulation par rapport à la ligne de base chez 25 % des rats présents dans l'étude. Les coupes histologiques démontrent que la lésion de l'Hb était généralement située dans la portion postérieure de la structure et, dans quelques cas, la partie la plus rostrale du FR était lésée. Une réduction du pouvoir renforçant de la stimulation a été observée dans l'HL, l'ATV et dans le DR, mais aucun changement ne fut noté au niveau du RM.

Dans la majorité des cas, la lésion s'installe graduellement et perdure tout au long de l'étude. L'effet le plus grand a été observé chez le rat 383, un animal avec une électrode de stimulation au niveau de l'ATV. Chez cet animal, le seuil de stimulation a augmenté d'environ 245 % ( $0.54 \log_{10}$  units) par rapport à la ligne de base, tandis que

pour les autres animaux, l'effet de la lésion sur le seuil de stimulation était compris entre 30-90 % ( $0.12-0.28 \log_{10}$  units). Ce résultat supporte donc l'hypothèse que l'Hb joue un rôle critique en modulant le renforcement déclenché par la stimulation électrique d'une variété d'emplacements.

## **5. Discussion**



## 5.1 Le rôle de l'habenula dans le circuit neuronal de l'ASI

Ce travail de recherche avait pour objectif l'étude de la relation fonctionnelle entre L'Hb ; l'HL, l'ATV, le RD et le RM. Le comportement d'ASI, la méthode psychophysique et la technique de lésion électrolytique ont été utilisés afin d'évaluer cette relation. La combinaison de ces trois techniques nous a permis d'observer, chez 25 % des animaux présents dans l'étude, une diminution du renforcement suite à la lésion de l'Hb, lorsque l'électrode de stimulation se trouvait au niveau de l'HL, l'ATV et du RD. Cependant, aucun changement ne fut noté lorsque l'électrode était située au niveau du RM. Ces résultats suggèrent donc que l'Hb pourrait avoir un rôle à jouer dans le circuit neuronal du renforcement.

### 5.1.1 Analyse histologique de l'emplacement des électrodes

Suivant la coloration à la thionine, l'analyse histologique des coupes de cerveaux des différents animaux présents dans l'étude démontre que les sites de stimulation compris dans l'HL étaient largement distribués le long de l'axe antéropostérieur du FMP. En dépit de cette variabilité, on constate que la forme des courbes nombre-courants obtenues à partir de ces emplacements était très similaire. Ceci nous laisse croire que les divers sites stimulés le long de cet axe étaient compris dans un faisceau de fibres où la distribution des cellules de premier ordre (premières cellules stimulées à la pointe de l'électrode) était homogène. Par contre, on constate que même si les sites compris dans l'ATV, le RM et le RD étaient testés sur une gamme comparable d'intensité de courant, un plus grand spectre de seuils de stimulations était couvert, comparativement à ce que l'on observe au niveau de l'HL. Ceci porte à croire que la distribution des cellules de premier ordre était plus diffuse à la pointe de l'électrode pour ces sites.

Alternativement, l'augmentation de l'intensité du courant pourrait avoir recruté la contribution d'une population hétérogène de neurones. Par exemple, ces neurones pourraient avoir différentes chronaxies, différentes périodes réfractaires ou tout autre caractéristiques physiologiques.

### *5.1.2 Utilisation des lésions électrolytiques*

Il fut démontré par le passé que l'utilisation de la technique des lésions électrolytiques pour étudier l'ASI démontre une discordance entre la taille et la localisation de la lésion sur le seuil de la stimulation. Notre étude n'échappe pas à ce paradoxe. Premièrement, on constate que la taille et la localisation de la lésion sont similaires entre les différents animaux présents dans l'étude, à l'exception de ceux ayant l'électrode de stimulation dans l'HL. Par contre, comme décrit au préalable, la lésion a produit une modification du renforcement uniquement chez 25 % des animaux présents dans l'étude. Par exemple, le rat 383 et le rat 409 ont une lésion très similaire, et le site de stimulation compris dans l'ATV est séparé d'environ 0.5 mm. Basé sur la grande ressemblance du site de lésion et de stimulation pour ces deux animaux, on pourrait donc s'attendre à obtenir des résultats relativement similaires. Par contre, il est démontré dans l'étude de Rompré et Miliaressis (1985) qu'un changement aussi petit que 0.16 mm peu produire une modification drastique de l'efficacité renforçante de la stimulation (Rompré et Miliaressis, 1985). En lien avec cette étude, on constate que le rat 383 démontre une augmentation du seuil de stimulation de 245 % ( $0.54 \log_{10}$  units), alors que le rat 409 ne démontre aucun changement suite à la lésion, et ce, pour les vingt-deux jours de test. Étonnamment, la courbe nombre-courant obtenue pour le rat 409 a clairement été déplacée vers la gauche par rapport aux trois autres courbes obtenues pour les rats ayant

une électrode de stimulation dans l'ATV. Basé sur la théorie du déplacement de la courbe décrit au préalable, ce déplacement vers la gauche laisse croire qu'une densité relativement plus élevée d'axones impliqués dans le renforcement se trouvait à la pointe de l'électrode de stimulation chez le rat 409. Intuitivement, ce déplacement vers la gauche pourrait suggérer une plus grande probabilité d'observer un effet de lésion chez le rat 409, mais ceci n'est pas observé.

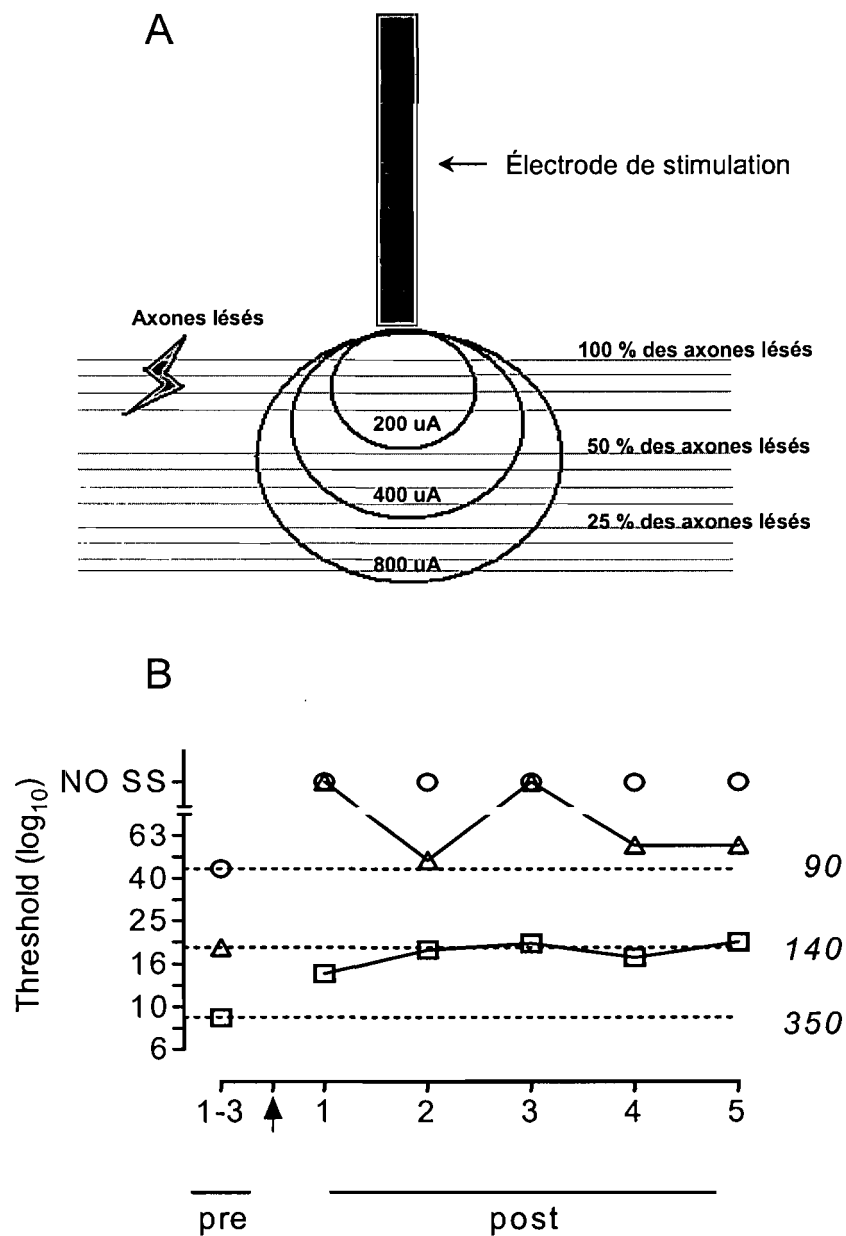
Lors de l'analyse des courbes nombres-pulsions, un résultat suspect a été observé chez le rat 415. Ce dernier avait une électrode de stimulation au niveau du DR. Les résultats démontrent une augmentation du seuil de stimulation suite à la lésion produite au courant d'intensité moyenne (330 $\mu$ A). Par contre, on constate chez cet animal que le nombre de pulsions auquel l'asymptote est atteinte est décalé vers la droite suite à la lésion. De plus, on observe que la transformation de la courbe est non scalaire, c'est-à-dire qu'uniquement les taux de réponse aux pulsions élevées augmentent. Cette augmentation aura une répercussion directe sur l'augmentation du seuil de renforcement puisque, comme décrit au préalable, celui-ci correspond à la fréquence des pulsions requise pour induire un taux de réponses égal à 50% du taux maximal (M50). Ceci nous laisse croire que les résultats obtenus pour cet animal seraient un artéfact; c'est-à-dire que l'augmentation du seuil de renforcement ne serait pas occasionnée par une diminution du renforcement en soi, mais bel et bien par une augmentation du taux de réponse aux pulsions élevées. Par contre, en utilisant l'indice de mesure  $\Theta_0$ , point où la ligne de régression intercepte l'abscisse, l'effet de distorsion observé aurait pu être neutralisé.

### ***5.1.3 Effet de l'intensité du courant sur le renforcement***

Dans cette étude, la méthode psychophysique a été combinée à l'utilisation des trois courants. Il a été décrit préalablement que l'utilisation des trois courants fournit de l'information supplémentaire sur l'emplacement des axones lésés par rapport à la pointe de l'électrode de stimulation. De plus, cette technique est très utile lorsqu'elle est combinée au comportement d'ASI, car elle fournit de l'information sur l'organisation spatiotemporelle des axones situés à la pointe de l'électrode de stimulation. Cet argument est basé sur le postulat que les neurones de premier ordre sont distribués de manière homogène autour de la pointe de l'électrode. Dans notre étude, nous avons sélectionné trois courants qui ont produit des seuils de stimulation séparés d'environ 0.3  $\log_{10}$  units (10, 20, 40 pulsions/salves). Quelques études effectuées par le passé ont démontré un effet de la lésion plus important au courant d'intensité basse comparativement aux courants d'intensités moyenne et élevée (Arvanitogiannis et al., 1996b; Boye, 2005; Gallistel et al., 1996; Murray et Shizgal, 1996). En accord avec la littérature antérieure, nos résultats démontrent un effet de la lésion aux courants d'intensités basse et moyenne et, dans la majorité des cas, aucun effet n'est observé au courant élevé. L'explication de ce phénomène n'est pas simple. Plusieurs hypothèses ont été proposées jusqu'à ce jour. L'une de ces explications est basée sur le postulat que l'efficacité de la lésion décroît avec la distance de la pointe de l'électrode. Le spectre de stimulation est directement proportionnel à l'intensité du courant utilisé. De ce fait, lors de l'utilisation d'un courant de faible intensité, une plus grande proportion de neurones sont endommagés dans la population totale d'axones recrutés que lorsqu'un courant de plus forte intensité est utilisé. Au courant le plus élevé, la proportion d'axones

endommagés/nombres d'axones totaux est réduite, car un nombre plus important d'axones demeurent intacts suite à la lésion (voir la figure IIA).

Une hypothèse stipule que les axones intacts compensent la perte des axones au centre du site de stimulation en augmentant leurs taux de décharge. Un phénomène similaire est observé lorsque la lésion est effectuée à un site distal du site de stimulation. Cette hypothèse est directement reliée au postulat qu'un alignement optimal est présent entre le site de stimulation et le site de lésion. Par contre, un grand nombre d'études utilisant la technique psychophysique avec deux électrodes suggère que l'alignement entre les deux électrodes n'est pas toujours parfait (Bielajew, Jordan, Ferme-Enright et Shizgal, 1981; Bielajew et Shizgal, 1986; Boye et Rompré, 1996; Shizgal, Schindler et Rompré, 1989). Alternativement, l'effet le plus grand de la lésion est généralement observé aux intensités du courant les plus basses occasionnées par la capacité limitée des cellules viables d'augmenter leurs taux de décharge (voir figure IIB).



**Figure II : Utilisation des trois courants pour étudier l'effet de la lésion sur le renforcement.** A) Proportion des fibres lésées dans trois champs de stimulation créée par trois intensités de courant différent. B) Seuil de renforcement en fonction du jour de test. L'axe des abscisses est divisé en pre-lésion et post-lésion. La pré-lésion correspond à une moyenne de trois jours de test avant la lésion ; les données individuelles post-lésion représentent la moyenne de deux seuils de stimulation provenant de deux essais. La flèche représente le moment où la lésion a eu lieu. Les chiffres en italiques correspondent aux trois intensités de courant utilisées (uA). Les carrés correspondent au courant de basse intensité, les triangles au courant d'intensité moyenne et finalement les cercles au courant d'intensité élevée. Les lignes horizontales au centre du graphique correspondent à la ligne de base des seuils de stimulation pré-lésion. Elles sont utiles pour faciliter la comparaison dans les changements de seuils.

Un second phénomène peut être observé chez certains animaux : quelques fois, l'effet de la lésion tarde à apparaître. Dans notre étude, cet effet est observé chez le rat 379. Chez cet animal, l'effet de la lésion survient quinze jours post-lésion. La principale hypothèse pour tenter d'expliquer cet effet est basée sur le postulat que la lésion a endommagé partiellement les axones nécessaires à l'efficacité du renforcement au site d'intérêt. Du coup, quelques jours doivent s'écouler avant que ces axones ne soient plus fonctionnels; c'est-à-dire qu'ils ne sont plus en mesure de générer des potentiels d'action. À partir de ce moment, un nombre plus important de pulsions par salves sera nécessaire pour obtenir le même renforcement à une intensité du courant équivalente.

#### ***5.1.4 Implication de l'habenula dans le circuit neuronal du renforcement***

L'implication de l'Hb dans le circuit de renforcement fut proposée en premier lieu par Boyd et ses collègues (Boyd et Celso, 1970; Boyd et Gardner, 1967). Par la suite, Sutherland et Nakajima (1981) ont démontré que la stimulation du complexe habenulaire générait une réponse opérante chez l'animal. Par contre, ils ont constaté que la stimulation de ce site générait de faibles taux de réponse chez l'animal, comparativement à la stimulation de l'HL. Parallèlement, le rôle de l'Hb dans le renforcement fut validé par Miliareisis (Vachon et Miliareisis, 1992). Ces derniers ont démontré qu'en dépit des bas taux de réponse, la stimulation de l'Hb pourrait avoir un pouvoir renforçant très important. De plus, le rôle de l'Hb dans le circuit du renforcement fut largement corroboré par l'observation de l'augmentation des niveaux d'immunoréactivité de FOS (Arvanitogiannis et al., 1996a; Arvanitogiannis et al., 1997; Arvanitogiannis et al., 2000; Hunt et McGregor, 1998; Hunt et McGregor, 2002), et par l'augmentation du métabolisme oxydatif (Bielajew, 1991) dans cette structure,

subséquente à la stimulation des sites compris dans le FMP. Paradoxalement, des études démontrent que l'activité métabolique de l'Hb, mesurée par l'autoradiographie au  $^{14}\text{C}$ -2-deoxyglucose, est diminuée suite à la stimulation de sites situés dans le FMP (Gallistel et al., 1985; Gomita et Gallistel, 1982). Le mystère qui entoure ce paradoxe n'est toujours pas bien compris dans le monde de la recherche.

Dans l'étude effectuée par Sutherland et Nakajima (1981), les lésions électrolytiques étaient employées pour étudier la relation fonctionnelle entre l'Hb et les sites compris dans le FMP ou dans le RM. Les résultats de leur étude démontrent que la lésion de l'Hb augmente les taux de réponse lorsque l'électrode de stimulation se trouve dans le FMP et que la lésion du FMP produit une augmentation des taux de réponse au niveau de l'Hb. Réciproquement, la destruction électrolytique du RM a généralement atténué l'ASI au niveau de l'Hb, tandis que la lésion de l'Hb n'a produit aucun changement sur l'ASI au niveau du RM. Les auteurs ont conclu que le renforcement au niveau de l'Hb dépend du processus de stimulation au niveau du RM, indépendamment de la participation du FMP. En fait, la désinhibition mutuelle du renforcement suite à la lésion de l'Hb et du FMP a suggéré un rôle antagoniste mutuel entre ces deux systèmes. Nos résultats ne soutiennent pas l'hypothèse de l'antagonisme mutuel. Malgré le fait que, tout comme les résultats de l'étude mentionnée ci-haut, nous n'avons observé aucun effet de lésion au niveau du RM, nous avons en fait prouvé que les lésions électrolytiques de l'Hb ont causé des réductions substantielles du pouvoir renforçant de la stimulation, non seulement dans le FMP, mais également au niveau de la stimulation du RD. Ces résultats renforcent la précaution que nous devons prendre lors de l'interprétation des résultats obtenus avec la mesure des taux de réponse. En effet, les



changements du taux de réponse suivant une lésion ou n'importe quelle autre manipulation peuvent être occasionnés par un changement dans la capacité de l'animal à effectuer une tâche opérante occasionnée par une modification du pouvoir renforçant de la stimulation ou bien les deux (Edmonds et Gallistel, 1974; Hodos et Valenstein, 1962; Miliaressis et al., 1986).

Plusieurs expériences utilisant des mesures psychophysiques et électrophysiologiques suggèrent qu'une sous-population de cellules de premier ordre voyage longitudinalement le long du FMP et que leur corps cellulaire réside dans des noyaux compris dans le cerveau antérieur (Bielajew et Shizgal, 1986; Rompré et Shizgal, 1986; Shizgal et al., 1980; Shizgal et al., 1989). Cependant, les études de lésion effectuées par le passé qui avaient pour objectif de comprendre la trajectoire des axones de premier ordre compris dans le FMP ont été contaminées par des résultats difficiles à interpréter. Premièrement, on constate que des lésions très similaires situées dans les mêmes régions et de mêmes tailles peuvent parfois être efficaces et parfois inefficaces (Arvanitogiannis et al., 1996b; Murray et Shizgal, 1991; Murray et Shizgal, 1996; Simmons et al., 1998; Waraczynski, 1988). En second lieu, des études effectuées par le passé ont démontré que lorsque la lésion est située rostrale par rapport à l'électrode de stimulation, l'atténuation de l'efficacité renforçante de la stimulation est légèrement plus basse que lorsque la lésion est située à une distance équivalente, mais caudale du site de stimulation (Gallistel et al., 1996; Waraczynski, 1988). L'étude la plus déroutante est celle de Gallistel et ses collègues (Simmons et al., 1998). Ces derniers ont combiné un traceur rétrograde à des mesures psychophysiques et ont découvert que la destruction massive du FMP rostral conserve, de manière intacte, les

connexions anatomiques entre l'ATV et la région infralimbique, les noyaux de la bande diagonale de Broca, le complexe septal et les régions préoptiques latérales et médianes. Ceci suggère que la connexion dorsale diencephalique puisse constituer une route viable de cellules de premier ordre qui sont situées dans le cerveau moyen et innervent les structures comprises dans le cerveau moyen et postérieur (Sutherland, 1982). Cette voie médiane dorsale offre un substrat pour le transport rétrograde dans l'étude de Simmons et al (1998), et peut offrir une explication pour les lésions inefficaces ou contradictoires obtenues dans les études effectuées au préalable. Il semblerait que l'origine des corps cellulaires de cet itinéraire alternatif prend naissance dans la bande diagonale de Broca et le septum, passe dans la voie dorsale médiane, contourne l'Hb et termine sa route dans le mésencéphale postérieur (Gottesfeld et Jacobowitz, 1978; Herkenham et Nauta, 1977; McGeer, Scherer-Singler et Singh, 1979). La conduction le long de cet itinéraire alternatif a pu épargner de manière efficace la destruction des cellules de premier ordre lors des lésions du FMP antérieur.

De plus, on croit que le système de conduction dorsale diencephalique pourrait avoir une relation fonctionnelle parallèle au FMP en liant les sites limbiques compris dans le cerveau antérieur au mésencéphale, soit le cerveau médian (Sutherland, 1982). Ces deux systèmes de conduction convergeraient à leurs extrémités rostrale et caudale et certaines cellules comprises dans le cerveau antérieur pourraient générer des axones collatéraux par le système de conduction du diencephale dorsal et le système plus ventral, celui compris dans le FMP (Millhouse, 1969). Ces connexions collatérales pourraient en partie expliquer l'effet de compensation observé lors des lésions de différents sites compris dans le FMP. Les afférences et les efférences des deux systèmes

de conduction pourraient expliquer la notion de liaison qui unit ces deux systèmes. Finalement, la superposition des périodes réfractaires provenant des cellules de premier ordre qui se trouve à proximité de l'Hb et dans le MFB supporte la notion d'une population commune de cellules qui les unissent (Vachon et Miliaressis, 1992). Par contre, bien que l'implication du FMP dans l'ASI soit très bien documentée, les résultats de cette étude s'ajoutent à un ensemble de résultats qui suggère un rôle pour le système dorsal diencephalique dans le renforcement. De plus, nos résultats semblent supporter l'hypothèse que l'Hb pourrait jouer un rôle central dans la connexion du cerveau antérieur, médian et postérieur.

En résumé, cette étude démontre que la lésion électrolytique unilatérale de l'Hb produit une atténuation très importante et de longue durée de l'efficacité renforçante de la stimulation. Bien qu'il fut démontré précédemment que la stimulation directe de l'Hb est en mesure de supporter le comportement d'ASI, jusqu'à présent, la relation fonctionnelle qui unit cette structure à l'ensemble du circuit neuronal impliqué dans le renforcement par l'utilisation de la méthode psychophysique n'avait jamais été étudiée. Les résultats de cette étude proposent donc que la destruction du complexe habenulaire interfère avec l'efficacité renforçante de la stimulation aux sites distaux de ce complexe et peuvent donc constituer une partie importante du substrat dans le circuit neuronal de renforcement.

### *5.1.5 Avenues Futures*

Les résultats de notre étude suggèrent une relation fonctionnelle entre l'Hb et différents sites compris dans le FMP et le cerveau postérieur soit l'HL, le VTA et le RD. Par contre, elle ne nous permet pas de savoir comment ces sites interagissent entre eux. Il semble donc pertinent de poursuivre des études couvrant ce sujet de recherche. Premièrement, il serait très intéressant d'effectuer des études de collisions, puisqu'elles nous permettraient de connaître le lien anatomique qui existe entre l'ensemble de ces structures. En second lieu, comme la dopamine constitue un neurotransmetteur clé dans le renforcement, il serait pertinent de déterminer l'effet de l'injection d'agoniste ou d'antagoniste dopaminergique directement dans l'Hb sur l'effet de récompense induit par la stimulation de l'HL, de l'ATV, du RD et ou RM. De plus, il serait intéressant de vérifier si l'effet de récompense induit par la stimulation de l'Hb est altéré par les drogues qui modifient la neurotransmission dopaminergique. Les trois études mentionnées ci-haut pourraient nous permettre d'obtenir de l'information complémentaire qui permettrait d'élargir nos connaissances par rapport aux relations anatomiques et chimiques qui existent entre l'Hb et le reste du circuit neuronal impliqué dans le renforcement.

## 6. Sources Documentaires

Acheson A, Waraczynski M, Perkins M (2000) Lesions and inactivation implicate dorsolateral hindbrain in MFB self-stimulation. *Physiol Behav* 71: 159-171.

Aghajanian GK, Wang RY (1977) Habenular and other midbrain raphe afferents demonstrated by a modified retrograde tracing technique. *Brain Res* 122: 229-242.

Akagi K, Powell EW (1968) Differential projections of habenular nuclei. *J Comp Neurol* 132: 263-274.

Amat J, Sparks PD, Matus-Amat P, Griggs J, Watkins LR, Maier SF (2001) The role of the habenular complex in the elevation of dorsal raphe nucleus serotonin and the changes in the behavioral responses produced by uncontrollable stress. *Brain Res* 917: 118-126.

Arvanitogiannis A, Flores C, Pfaus JG, Shizgal P (1996a) Increased ipsilateral expression of Fos following lateral hypothalamic self-stimulation. *Brain Res* 720: 148-154.

Arvanitogiannis A, Flores C, Shizgal P (1997) Fos-like immunoreactivity in the caudal diencephalon and brainstem following lateral hypothalamic self-stimulation. *Behav Brain Res* 88: 275-279.

Arvanitogiannis A, Riscaldino L, Shizgal P (1999) Effects of NMDA lesions of the medial basal forebrain on LH and VTA self-stimulation. *Physiol Behav* 65: 805-810.

Arvanitogiannis A, Tzschentke TM, Riscaldino L, Wise RA, Shizgal P (2000) Fos expression following self-stimulation of the medial prefrontal cortex. *Behav Brain Res* 107: 123-132.

Arvanitogiannis A, Waraczynski M, Shizgal P (1996b) Effects of excitotoxic lesions of the basal forebrain on MFB self-stimulation. *Physiol Behav* 59: 795-806.

Ascher P, Large WA, Rang HP (1979) Studies on the mechanism of action of acetylcholine antagonists on rat parasympathetic ganglion cells. *J Physiol* 295: 139-170.

Beckstead RM, Domesick VB, Nauta WJ (1979) Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat. *Brain Res* 175: 191-217.

Benabid AL, Jeaugey L (1989) Cells of the rat lateral habenula respond to high-threshold somatosensory inputs. *Neurosci Lett* 96: 289-294.

Bielajew C, Jordan C, Ferme-Enright J, Shizgal P (1981) Refractory periods and anatomical linkage of the substrates for lateral hypothalamic and periaqueductal gray self-stimulation. *Physiol Behav* 27: 95-104.

Bielajew C, Miguelez M, Shiao R (2002) Electrolytic lesions of the cortical and adjacent nuclei in the amygdala differentially influence thresholds for rewarding medial forebrain bundle stimulation. *Behav Neurosci* 116: 660-671.

Bielajew C, Shizgal P (1982) Behaviorally derived measures of conduction velocity in the substrate for rewarding medial forebrain bundle stimulation. *Brain Res* 237: 107-119.

Bielajew C, Shizgal P (1986) Evidence implicating descending fibers in self-stimulation of the medial forebrain bundle. *J Neurosci* 6: 919-929.

Bielajew CH (1991) Distribution of cytochrome oxidase in response to rewarding brain stimulation: effect of different pulse durations. *Brain Res Bull* 26: 379-384.

Blander A, Wise RA (1989) Anatomical mapping of brain stimulation reward sites in the anterior hypothalamic area: special attention to the stria medullaris. *Brain Res* 483: 12-16.

Bobillier P, Pettijean F, Salvart D, Ligier M, Seguin S (1975) Differential projections of the nucleus raphe dorsalis and nucleus raphe centralis as revealed by autoradiography. *Brain Res* 85: 205-210.

Booth DA (1967) Localization of the adrenergic feeding system in the rat diencephalon. *Science* 158: 515-517.

Boyd ES, Celso MB (1970) Effect of some brain lesions on septal intracranial self-stimulation in the rat. *Am J Physiol* 219: 734-741.

Boyd ES, Gardner LC (1967) Effect of some brain lesions on intracranial self-stimulation in the rat. *Am J Physiol* 213: 1044-1052.

Boye SM (2005) Mesencephalic substrate of reward: lesion effects. *Behav Brain Res* 156: 31-43.

Boye SM, Rompré P-P (1996) Mesencephalic substrate of reward: axonal connections. *J Neurosci* 16: 3511-3520.

Brace H, Latimer M, Winn P (1997) Neurotoxicity, blood-brain barrier breakdown, demyelination and remyelination associated with NMDA-induced lesions of the rat lateral hypothalamus. *Brain Res Bull* 43: 447-455.

Bunney BS, Aghajanian GK (1976) The precise localization of nigral afferents in the rat as determined by a retrograde tracing technique. *Brain Res* 117: 423-435.

Cajal & Ramon (1911) *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. Maloine, Paris.

Carter DA, Phillips AG (1975) Intracranial self-stimulation at sites in the dorsal medulla oblongata. *Brain Res* 94: 155-160.

- Clavier RM, Gerfen CR (1982) Intracranial self-stimulation in the thalamus of the rat. *Brain Res Bull* 8: 353-358.
- Cohen SR, Melzack R (1985) Morphine injected into the habenula and dorsal posteromedial thalamus produces analgesia in the formalin test. *Brain Res* 359: 131-139.
- Corbett D, Fox E, Milner PM (1982) Fiber pathways associated with cerebellar self-stimulation in the rat: a retrograde and anterograde tracing study. *Behav Brain Res* 6: 167-184.
- Corbett D, Wise RA (1979) Intracranial self-stimulation in relation to the ascending noradrenergic fiber systems of the pontine tegmentum and caudal midbrain: a moveable electrode mapping study. *Brain Res* 177: 423-436.
- Corodimas KP, Rosenblatt JS, Canfield ME, Morrell JI (1993) Neurons in the lateral subdivision of the habenular complex mediate the hormonal onset of maternal behavior in rats. *Behav Neurosci* 107: 827-843.
- Crow TJ, Spear PJ, Arbuthnott GW (1972) Intracranial self-stimulation with electrodes in the region of the locus coeruleus. *Brain Res* 36: 275-287.
- Cuello AC, Emson PC, Paxinos G, Jessell T (1978) Substance P containing and cholinergic projections from the habenula. *Brain Res* 149: 413-429.
- Deutsch JA, Dams DW, Metzner RJ (1964) Choice of intracranial stimulation as a function of delay between stimulations and strength of competing drive. *J Comp Physiol Psychol* 57: 241-243.
- Edmonds DE, Gallistel CR (1974) Parametric analysis of brain stimulation reward in the rat: III. Effect of performance variables on the reward summation function. *J Comp Physiol Psychol* 87: 876-883.
- Fouriez G, Wise RA (1984) Current-distance relation for rewarding brain stimulation. *Behav Brain Res* 14: 85-89.
- Gallistel CR, Gomita Y, Yadin E, Campbell KA (1985) Forebrain origins and terminations of the medial forebrain bundle metabolically activated by rewarding stimulation or by reward-blocking doses of pimozide. *J Neurosci* 5: 1246-1261.
- Gallistel CR, Leon M, Lim BT, Sim JC, Waraczynski M (1996) Destruction of the medial forebrain bundle caudal to the site of stimulation reduces rewarding efficacy but destruction rostrally does not. *Behav Neurosci* 110: 766-790.
- Gallistel CR, Shizgal P, Yeomans JS (1981) A portrait of the substrate for self-stimulation. *Psychol Rev* 88: 228-273.
- Geisler S, Zahm DS (2006) On the retention of neurotensin in the ventral tegmental area (VTA) despite destruction of the main neurotensinergic afferents of the VTA--implications for the organization of forebrain projections to the VTA. *Brain Res* 1087: 87-104.

- Gomita Y, Gallistel CR (1982) Effects of reinforcement-blocking doses of pimozide on neural systems driven by rewarding stimulation of the MFB: a <sup>14</sup>C-2-deoxyglucose analysis. *Pharmacol Biochem Behav* 17: 841-845.
- Gonzalez-Lima F, Scheich H (1986) Classical conditioning of tone-signaled bradycardia modifies 2-deoxyglucose uptake patterns in cortex, thalamus, habenula, caudate-putamen and hippocampal formation. *Brain Res* 363: 239-256.
- Goto M, Swanson LW, Canteras NS (2001) Connections of the nucleus incertus. *J Comp Neurol* 438: 86-122.
- Gottesfeld Z (1983) Origin and distribution of noradrenergic innervation in the habenula: a neurochemical study. *Brain Res* 275: 299-304.
- Gottesfeld Z, Jacobowitz DM (1978) Cholinergic projection of the diagonal band to the interpeduncular nucleus of the rat brain. *Brain Res* 156: 329-332.
- Gratton A, Wise RA (1983) Brain stimulation reward in the lateral hypothalamic medial forebrain bundle: mapping of boundaries and homogeneity. *Brain Res* 274: 25-30.
- Groenewegen HJ, Berendse HW, Haber SN (1993) Organization of the output of the ventral striatopallidal system in the rat: ventral pallidal efferents. *Neuroscience* 57: 113-142.
- Han ZS, Ju G (1990) Effects of electrical stimulation of the central nucleus of the amygdala and the lateral hypothalamic area on the oval nucleus of the bed nuclei of the stria terminalis and its adjacent areas in the rat. *Brain Res* 536: 56-62.
- Haun F, Eckenrode TC, Murray M (1992) Habenula and thalamus cell transplants restore normal sleep behaviors disrupted by denervation of the interpeduncular nucleus. *J Neurosci* 12: 3282-3290.
- Herkenham M, Nauta WJ (1977) Afferent connections of the habenular nuclei in the rat. A horseradish peroxidase study, with a note on the fiber-of-passage problem. *J Comp Neurol* 173: 123-146.
- Herkenham M, Nauta WJ (1979) Efferent connections of the habenular nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 187: 19-47.
- Hodos W, Valenstein ES (1962) An evaluation of response rate as a measure of rewarding intracranial stimulation. *J Comp Physiol Psychol* 55: 80-84.
- Hoebel BG, Thompson RD (1969) Aversion to lateral hypothalamic stimulation caused by intragastric feeding or obesity. *J Comp Physiol Psychol* 68: 536-543.
- Holstege JC (1987) Brainstem projections to lumbar motoneurons in rat--II. An ultrastructural study by means of the anterograde transport of wheat germ agglutinin coupled to horseradish peroxidase and using the tetramethyl benzidine reaction. *Neuroscience* 21: 369-376.



- Huang YH, Routtenberg A (1971) Lateral hypothalamic self-stimulation pathways in *Rattus norvegicus*. *Physiol Behav* 7: 419-432.
- Hunt GE, McGregor IS (1998) Rewarding brain stimulation induces only sparse Fos-like immunoreactivity in dopaminergic neurons. *Neuroscience* 83: 501-515.
- Hunt GE, McGregor IS (2002) Contrasting effects of dopamine antagonists and frequency reduction on Fos expression induced by lateral hypothalamic stimulation. *Behav Brain Res* 132: 187-201.
- Janas JD, Stellar JR (1987) Effects of knife-cut lesions of the medial forebrain bundle in self-stimulating rats. *Behav Neurosci* 101: 832-845.
- Kane F, Coulombe D, Miliareissis E (1991) Amygdaloid self-stimulation: a movable electrode mapping study. *Behav Neurosci* 105: 926-932.
- Kelley SP, Mittleman G (1999) Effects of hippocampal damage on reward threshold and response rate during self-stimulation of the ventral tegmental area in the rat. *Behav Brain Res* 99: 133-141.
- Kha HT, Finkelstein DI, Pow DV, Lawrence AJ, Horne MK (2000) Study of projections from the entopeduncular nucleus to the thalamus of the rat. *J Comp Neurol* 426: 366-377.
- Kim U, Chang SY (2005) Dendritic morphology, local circuitry, and intrinsic electrophysiology of neurons in the rat medial and lateral habenular nuclei of the epithalamus. *J Comp Neurol* 483: 236-250.
- Kiss J, Csaki A, Bokor H, Kocsis K, Kocsis B (2002) Possible glutamatergic/aspartatergic projections to the supramammillary nucleus and their origins in the rat studied by selective [(3)H]D-aspartate labelling and immunocytochemistry. *Neuroscience* 111: 671-691.
- Kizer JS, Palkovits M, Brownstein MJ (1976) The projections of the A8, A9 and A10 dopaminergic cell bodies: evidence for a nigral-hypothalamic-median eminence dopaminergic pathway. *Brain Res* 108: 363-370.
- Koob GF (1998) Circuits, drugs, and drug addiction. *Adv Pharmacol* 42: 978-982.
- Koob GF, Le MM (2001) Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology* 24: 97-129.
- Lestang I, Cardo B, Roy MT, Velley L (1985) Electrical self-stimulation deficits in the anterior and posterior parts of the medial forebrain bundle after ibotenic acid lesion of the middle lateral hypothalamus. *Neuroscience* 15: 379-388.
- Malette J, Miliareissis E (1995) Interhemispheric links in brain stimulation reward. *Behav Brain Res* 68: 117-137.

- Matthews-Felton T, Corodimas KP, Rosenblatt JS, Morrell JJ (1995) Lateral habenula neurons are necessary for the hormonal onset of maternal behavior and for the display of postpartum estrus in naturally parturient female rats. *Behav Neurosci* 109: 1172-1188.
- McGeer EG, Scherer-Singler U, Singh EA (1979) Confirmatory data on habenular projections. *Brain Res* 168: 375-376.
- Micco DJ, Jr. (1974) Complex behaviors elicited by stimulation of the dorsal pontine tegmentum in rats. *Brain Res* 75: 172-176.
- Migueluez M, Kentner AC, Deslauriers K, Parkinson M, Fouriez G, Bielajew C (2004) Interhemispheric involvement of the anterior cortical nuclei of the amygdala in rewarding brain stimulation. *Brain Res* 1003: 138-150.
- Miliaressis E, Malette J, Coulombe D (1986) The effects of pimozide on the reinforcing efficacy of central grey stimulation in the rat. *Behav Brain Res* 21: 95-100.
- Miliaressis E, Rompré P-P (1987) Effects of concomitant motor reactions on the measurement of rewarding efficacy of brain stimulation. *Behav Neurosci* 101: 827-831.
- Miliaressis E, Rompré P-P, Laviolette P, Philippe L, Coulombe D (1986) The curve-shift paradigm in self-stimulation. *Physiol Behav* 37: 85-91.
- Millhouse OE (1969) A Golgi study of the descending medial forebrain bundle. *Brain Res* 15: 341-363.
- Modianos DT, Hitt JC, Flexman J (1974) Habenular lesions produce decrements in feminine, but not masculine, sexual behavior in rats. *Behav Biol* 10: 75-87.
- Mok AC, Mogenson GJ (1974) Effects of electrical stimulation of the lateral habenular nucleus and lateral hypothalamus on unit activity in the upper brain stem. *Brain Res* 78: 425-435.
- Moore RY, Halaris AE, Jones BE (1978) Serotonin neurons of the midbrain raphe: ascending projections. *J Comp Neurol* 180: 417-438.
- Murphy CA, DiCamillo AM, Haun F, Murray M (1996) Lesion of the habenular efferent pathway produces anxiety and locomotor hyperactivity in rats: a comparison of the effects of neonatal and adult lesions. *Behav Brain Res* 81: 43-52.
- Murray B, Shizgal P (1991) Anterolateral lesions of the medial forebrain bundle increase the frequency threshold for self-stimulation of the lateral hypothalamus and ventral tegmental area in the rat. *Psychobiology* 19: 135-146.
- Murray B, Shizgal P (1996) Attenuation of medial forebrain bundle reward by anterior lateral hypothalamic lesions. *Behav Brain Res* 75: 33-47.

- Nassif S, Cardo B, Libersat F, Velley L (1985) Comparison of deficits in electrical self-stimulation after ibotenic acid lesion of the lateral hypothalamus and the medial prefrontal cortex. *Brain Res* 332: 247-257.
- Nauta WJ (1958) Hippocampal projections and related neural pathways to the midbrain in the cat. *Brain* 81: 319-340.
- Olds J (1962) Hypothalamic substrates of reward. *Physiol Rev* 42: 554-604.
- Olds J, Milner P (1954) Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *J Comp Physiol Psychol* 47: 419-427.
- Olds ME, Olds J (1963) Approach-avoidance analysis of rat diencephalon. *J Comp Neurol* 120: 259-295.
- Panagis G, Miliaressis E, Anagnostakis Y, Spyraiki C (1995) Ventral pallidum self-stimulation: a moveable electrode mapping study. *Behav Brain Res* 68: 165-172.
- Parent A, Gravel S, Boucher R (1981) The origin of forebrain afferents to the habenula in rat, cat and monkey. *Brain Res Bull* 6: 23-38.
- Paxinos G, Watson C (1997) *The rat brain in Stereotaxic Coordinates*.
- Phillips AG, Mogenson GJ (1968) Effects of taste on self-stimulation and induced drinking. *J Comp Physiol Psychol* 66: 654-660.
- Phillipson OT, Griffiths AC (1985) The topographic order of inputs to nucleus accumbens in the rat. *Neuroscience* 16: 275-296.
- Phillipson OT, Pycock CJ (1982) Dopamine neurones of the ventral tegmentum project to both medial and lateral habenula. Some implications for habenular function. *Exp Brain Res* 45: 89-94.
- Powell EW, Leman RB (1976) Connections of the nucleus accumbens. *Brain Res* 105: 389-403.
- Prado-Alcala R, Wise RA (1984) Brain stimulation reward and dopamine terminal fields. I. Caudate-putamen, nucleus accumbens and amygdala. *Brain Res* 297: 265-273.
- Prado-Alcala RA, Kent EW, Reid LD (1975) Intracranial self-stimulation effects along the route of the nigro-striatal bundle. *Brain Res* 84: 531-540.
- Prewitt CM, Herman JP (1998) Anatomical interactions between the central amygdaloid nucleus and the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat: a dual tract-tracing analysis. *J Chem Neuroanat* 15: 173-185.
- Reisine TD, Soubrie P, Ferron A, Blas C, Romo R, Glowinski J (1984) Evidence for a dopaminergic innervation of the cat lateral habenula: its role in controlling serotonin transmission in the basal ganglia. *Brain Res* 308: 281-288.

- Risold PY, Canteras NS, Swanson LW (1994) Organization of projections from the anterior hypothalamic nucleus: a Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin study in the rat. *J Comp Neurol* 348: 1-40.
- Rolls ET, Burton MJ, Mora F (1980) Neurophysiological analysis of brain-stimulation reward in the monkey. *Brain Res* 194: 339-357.
- Rompré P-P, Boye S (1989) Localization of reward-relevant neurons in the pontine tegmentum: a moveable electrode mapping study. *Brain Res* 496: 295-302.
- Rompré P-P, Miliaressis E (1985) Pontine and mesencephalic substrates of self-stimulation. *Brain Res* 359: 246-259.
- Rompré P-P, Shizgal P (1986) Electrophysiological characteristics of neurons in forebrain regions implicated in self-stimulation of the medial forebrain bundle in the rat. *Brain Res* 364: 338-349.
- Ronnekleiv OK, Moller M (1979) Brain-pineal nervous connections in the rat: an ultrastructure study following habenular lesion. *Exp Brain Res* 37: 551-562.
- Routtenberg A (1971) Forebrain pathways of reward in *Rattus norvegicus*. *J Comp Physiol Psychol* 75: 269-276.
- Routtenberg A, Lindy J (1965) Effects of the availability of rewarding septal and hypothalamic stimulation on bar pressing for food under conditions of deprivation. *J Comp Physiol Psychol* 60: 158-161.
- Routtenberg A, Malsbury C (1969) Brainstem pathways of reward. *J Comp Physiol Psychol* 68: 22-30.
- Routtenberg A, Olds J (1966) Stimulation of dorsal midbrain during septal and hypothalamic self-stimulation. *J Comp Physiol Psychol* 62: 250-255.
- Routtenberg A, Sloan M (1972) Self-stimulation in the frontal cortex of *Rattus norvegicus*. *Behav Biol* 7: 567-572.
- Shizgal P, Bielajew C, Corbett D, Skelton R, Yeomans J (1980) Behavioral methods for inferring anatomical linkage between rewarding brain stimulation sites. *J Comp Physiol Psychol* 94: 227-237.
- Shizgal P, Schindler D, Rompré P-P (1989) Forebrain neurons driven by rewarding stimulation of the medial forebrain bundle in the rat: comparison of psychophysical and electrophysiological estimates of refractory periods. *Brain Res* 499: 234-248.
- Sim LJ, Joseph SA (1991) Arcuate nucleus projections to brainstem regions which modulate nociception. *J Chem Neuroanat* 4: 97-109.
- Simmons JM, Ackermann RF, Gallistel CR (1998) Medial forebrain bundle lesions fail to structurally and functionally disconnect the ventral tegmental area from many

ipsilateral forebrain nuclei: implications for the neural substrate of brain stimulation reward. *J Neurosci* 18: 8515-8533.

Simon H, Le MM, Cardo B (1975) Self-stimulation in the dorsal pontine tegmentum in the rat. *Behav Biol* 13: 339-347.

Skagerberg G, Lindvall O, Bjorklund A (1984) Origin, course and termination of the mesohabenular dopamine pathway in the rat. *Brain Res* 307: 99-108.

Smith WJ, Stewart J, Pfaus JG (1997) Tail pinch induces fos immunoreactivity within several regions of the male rat brain: effects of age. *Physiol Behav* 61: 717-723.

Sprick U, Munoz C, Huston JP (1985) Lateral hypothalamic self-stimulation persists in rats after destruction of lateral hypothalamic neurons by kainic acid or ibotenic acid. *Neurosci Lett* 56: 211-216.

Sutherland RJ (1982) The dorsal diencephalic conduction system: a review of the anatomy and functions of the habenular complex. *Neurosci Biobehav Rev* 6: 1-13.

Sutherland RJ, Nakajima S (1981) Self-stimulation of the habenular complex in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 95: 781-791.

Swanson LW (1976) An autoradiographic study of the efferent connections of the preoptic region in the rat. *J Comp Neurol* 167: 227-256.

Tennent BJ, Smith ER, Davidson JM (1982) Effects of progesterone implants in the habenula and midbrain on proceptive and receptive behavior in the female rat. *Horm Behav* 16: 352-363.

Touzani K, Velley L (1998) Electrical self-stimulation in the central amygdaloid nucleus after ibotenic acid lesion of the lateral hypothalamus. *Behav Brain Res* 90: 115-124.

Troiano R, Siegel A (1978) Efferent connections of the basal forebrain in the cat: the substantia innominata. *Exp Neurol* 61: 198-213.

Tronel S, Sara SJ (2002) Mapping of olfactory memory circuits: region-specific c-fos activation after odor-reward associative learning or after its retrieval. *Learn Mem* 9: 105-111.

Vachon MP, Miliaressis E (1992) Dorsal diencephalic self-stimulation: a movable electrode mapping study. *Behav Neurosci* 106: 981-991.

Vachon MP, Miliaressis E (1994) Post-stimulation excitability of diencephalic self-stimulation neurons. *Behav Brain Res* 60: 177-182.

Valjakka A, Vartiainen J, Tuomisto L, Tuomisto JT, Olkkonen H, Airaksinen MM (1998) The fasciculus retroflexus controls the integrity of REM sleep by supporting the generation of hippocampal theta rhythm and rapid eye movements in rats. *Brain Res Bull* 47: 171-184.

van der Kooy D, Phillips AG (1979) Involvement of the trigeminal motor system in brain stem self-stimulation and stimulation-induced behavior. *Brain Behav Evol* 16: 293-314.

Velley L (1986a) Effects of ibotenic acid lesion in the basal forebrain on electrical self-stimulation in the middle part of the lateral hypothalamus. *Behav Brain Res* 20: 303-311.

Velley L (1986b) The role of intrinsic neurons in lateral hypothalamic self-stimulation. *Behav Brain Res* 22: 141-152.

Velley L, Verney C, Kempf E, Berger B (1988) Opposite effects of ibotenic acid and 6-hydroxydopamine lesions of the lateral hypothalamus on intracranial self-stimulation and stimulation-induced locomotion. *Neuroscience* 25: 595-603.

Vertes RP, Fortin WJ, Crane AM (1999) Projections of the median raphe nucleus in the rat. *J Comp Neurol* 407: 555-582.

Waraczynski M (2003) Lidocaine inactivation demonstrates a stronger role for central versus medial extended amygdala in medial forebrain bundle self-stimulation. *Brain Res* 962: 180-198.

Waraczynski M, Carlton E, Perkins M (1998) Midbrain periaqueductal lesions do not degrade medial forebrain bundle stimulation reward. *Behav Brain Res* 95: 167-177.

Waraczynski M, Perkins M (1998) Lesions of pontomesencephalic cholinergic nuclei do not substantially disrupt the reward value of medial forebrain bundle stimulation. *Brain Res* 800: 154-169.

Waraczynski M, Perkins M (2000) Temporary inactivation of the retrorubral fields decreases the rewarding effect of medial forebrain bundle stimulation. *Brain Res* 885: 154-165.

Waraczynski M, Shizgal P (1995) Self-stimulation of the MFB following parabrachial lesions. *Physiol Behav* 58: 559-566.

Waraczynski M, Ton MN, Shizgal P (1990) Failure of amygdaloid lesions to increase the threshold for self-stimulation of the lateral hypothalamus and ventral tegmental area. *Behav Brain Res* 40: 159-168.

Waraczynski MA (1988) Basal forebrain knife cuts and medial forebrain bundle self-stimulation. *Brain Res* 438: 8-22.

Wise RA (1980) Action of drugs of abuse on brain reward systems. *Pharmacol Biochem Behav* 13 Suppl 1: 213-223.

Yamadori T (1969) Efferent fibers of the habenula and stria medullaris thalami in rats. *Exp Neurol* 25: 541-558.